Es ist gerade sehr wahrscheinlich dass die unorganische Elemente im complexen Eiweissmolekül nämlich das Eisen eine wesentliche Rolle bei den fermentativen Vorgängen (bei den Enzymwirkung) hat. Durch eine Reihe von Untersuchungen habe ich gezeigt, dass der Eisenchlorid gleich wie durch Aluminiumchlorid eine Reihe von organischen (chemischen Prozessen) Synthesen bewirkt wurde die in manchen Punkten ähnlich der Fermentwirkung sind. Versetzt man z.B. ein Gemisch von Benzol u. Benzoylchlorid mit einer minimalen Menge sublimirten $FeCl_3$ so wird dadurch eine grosse Menge des Benzol resp. Benzoylchlorid zu Benzophenon umgewandelt. Es ist uns auch gelungen ~~den Vorgang aufzuklären~~ in seinen einzelnen Phasen zu fixiren u. den Verlauf der ganzen Reaction aufzuklären

# MARCELI NENCKI

# OPERA OMNIA

GESAMMELTE ARBEITEN

VON

PROF. M. NENCKI

ERSTER BAND

1869 — 1885

BRAUNSCHWEIG

DRUCK UND VERLAG VON FRIEDRICH VIEWEG UND SOHN

1904

# VON DEN HERAUSGEBERN.

Das Studium von Prof. Nencki's Arbeiten war bisher mit grossen Schwierigkeiten verknüpft, da sie zum grössten Theil in einer ganzen Reihe verschiedener Zeitschriften in deutscher, aber auch in anderen, wie französischer, russischer und namentlich polnischer Sprache verstreut und sogar zu einem geringen Theile als Einzelmonographien erschienen sind, so dass es selbst in grossen Bibliotheken bisweilen nicht möglich war, sie aufzutreiben. Durch ihre Vereinigung in einer Sammlung wird diesem Uebelstande abgeholfen und zugleich werden wir in den Stand gesetzt, in die überaus interessante und bedeutungsvolle wissenschaftliche Thätigkeit des verstorbenen Gelehrten tieferen Einblick zu gewinnen. Dies sind die Hauptgründe, die uns bewogen haben, vorliegende Gesammtausgabe der Werke unseres theuren Lehrmeisters, des unvergesslichen Professors M. Nencki, in Angriff zu nehmen.

Nach unserem ursprünglichen Plane wollten wir uns ausschliesslich auf Prof. Nencki's eigene Arbeiten beschränken, doch schon bald konnten wir uns der Ueberzeugung nicht verschliessen, dass diese Grenze zu eng gezogen war und dass es sich nicht umgehen liess, eine Reihe von Arbeiten seiner Schüler, die auf seinen Vorschlag in seinem Laboratorium und unter seiner unmittelbaren Leitung entstanden waren, mit aufzunehmen, und zwar deshalb, weil sie zu manchen eigenen Arbeiten Nencki's die unentbehrliche Erläuterung und Ergänzung liefern oder weil sie ein Bindeglied zwischen solchen bilden, und uns so dem Entwickelungsprocesse dieses oder jenes wissenschaftlichen Problems, wie er sich im Laboratorium vollzogen hat, Schritt für Schritt folgen lassen. Alle diese Aufsätze nach ihrem Inhalte zu gruppiren, erwies sich im Hinblicke auf den grossen Umfang des Materials und auf die Fülle verschiedenartigster Themata, die mit einander öfters eng verknüpft sind, als ein Ding der Unmöglichkeit. Daher haben wir uns genöthigt gesehen, dem chronologischen Princip den Vorzug zu geben, und uns damit begnügt, dieser Ausgabe ein Verzeichniss voranzuschicken, worin alle Arbeiten ihrem Inhalte nach systematisch geordnet sind. Da die aus den ersten Jahren von Nencki's

wissenschaftlicher Thätigkeit stammenden Schriften gegenwärtig nur schwer zugänglich und nicht selten sogar in Referaten übergangen sind, haben wir uns entschlossen, alle bis zum Jahre 1882 erschienenen Abhandlungen von ihm und seinen Schülern in extenso zum Abdruck zu bringen. Bei der Bearbeitung des in späterer Zeit publicirten Materials haben wir den Grundsatz befolgt, Nencki's eigene Arbeiten ebenfalls unverändert und ungekürzt wiederzugeben, während die seiner Schüler nur in Gestalt von Referaten Aufnahme gefunden haben. In gewissen Fällen haben wir es aber auch hier für geboten erachtet, eine Ausnahme zu machen und sie in ihrem vollen Umfange zu reproduciren, und zwar wenn es ihr inniger Zusammenhang mit dieser oder jener Arbeit Nencki's zu fordern schien. Zu Beginn jedes Aufsatzes finden sich Angaben darüber, wo er ursprünglich publicirt worden ist. Wenn dies in mehreren Zeitschriften geschehen ist, so bezeichnet der Titel des ersten Journals die Quelle, aus der er in gegenwärtige Ausgabe übergegangen ist. In bestimmten Einzelfällen haben wir auch noch specielle Bemerkungen hinzugefügt.

Es kann keinem Zweifel unterliegen, dass bei der Sammlung und Sichtung eines so weit verstreuten Materials, das einen Zeitraum von dreissig Jahren umfasst, manche Ungenauigkeiten und Auslassungen haben mit unterlaufen können, doch glauben wir, alles zusammengebracht zu haben, was von Nencki's Arbeiten wesentliche Bedeutung besitzt, so dass es relativ leicht fallen muss, etwa offen gebliebene Lücken auszufüllen.

Zum Schluss empfinden wir es als eine erfreuliche Pflicht, Allen, die uns bei unserer Arbeit in der einen oder der anderen Weise beigestanden haben, unsere aufrichtige Erkenntlichkeit auszusprechen. Ausserdem danken wir herzlich Herrn S. Baratz für seine Rathschläge und Theilnahme betreffend Herausgabe dieses Werkes.

St. Petersburg, im September 1904.

**N. Sieber. J. Zaleski.**

# INHALT DES ERSTEN BANDES.

**Die mit einem Stern (*) versehenen Arbeiten sind nur als Referate abgedruckt.**

---

## 1878



## 1879

## 1883



## 1884

## 1885

# Biographische Skizze.

Marceli Nencki ist am 15. Januar 1847 in Boczki, dem Stammgute seiner Familie, im jetzigen Gouvernement Kalisz in Polen, geboren. Seine Schulbildung hat er auf dem Gymnasium zu Piotrków erhalten, das er im Jahre 1863 absolvirte. In demselben Jahre aber brach in Polen der Aufstand aus, auch der junge Nencki betheiligte sich daran und dies hatte zur Folge, dass er sein Vaterland verlassen musste. Zu Beginn des Jahres 1864 begegnen wir ihm in Krakau, wo er die Universität zu besuchen beabsichtigte. Allein die damalige politische Lage Oesterreichs bot ihm keine hinreichende Garantie für seine persönliche Sicherheit und dies bewog ihn, sich alsbald nach Jena zu begeben, wo er schon im April 1864 als Angehöriger der philosophischen Facultät inscribirt wurde, um sich dem Studium der Philosophie und der classischen Philologie hinzugeben. Nach Ablauf von drei Semestern ging er als Angehöriger derselben Facultät an die Berliner Universität über, und erst im Sommer des Jahres 1867 ergriff er das Studium der Medicin.

Diesen Wechsel in den Studien haben wir uns allem Anscheine nach durch zwei Gründe zu erklären. Der eine von diesen ist die specielle Geistesanlage Nencki's. Er war kein Freund von Abstractionen, die auf einer künstlichen Verflechtung von Begriffen und nicht auf in der Wirklichkeit ihnen entsprechenden Thatsachen beruhen. Er war jeglicher Metaphysik abhold, ein offener und klarer Geist, stets nur darauf bedacht, unumstössliche Facta zu constatiren und darauf seine Schlussfolgerungen aufzubauen. Deshalb mussten die Wissenschaften, die sich mit der unmittelbaren Erkenntniss der Dinge befassen, eine stärkere Anziehungskraft auf ihn ausüben, als das schlanke, aber schwankende Lehrgebäude der Philologie, die nicht die Erscheinungen selbst zum Gegenstande ihrer Betrachtung macht, sondern bloss deren Spiegelbilder im Geiste des Menschen. Als zweiter Factor ist die um die Mitte des XIX. Jahrhunderts allgemeine Geistesströmung in der Richtung der exacten Naturwissenschaften anzusehen, von der zu jener Zeit weite Kreise innerhalb der Culturwelt ergriffen wurden.

Im Lauf der nächsten drei Jahre, die Nencki auf das Studium der Naturwissenschaften und Medicin verwandte, präcisirt sich auch schon mit immer zunehmender Deutlichkeit die Richtung seiner zukünftigen wissenschaftlichen Thätigkeit. Er concentrirt seine Aufmerksamkeit in erster Linie auf die Chemie der Lebensprocesse. Damals jedoch stand die neue Wissenschaft noch in ihren Kinderschuhen und Liebig, gefolgt von seinen unmittelbaren Schülern, hatte zum ersten

seinen wissenschaftlichen Idealen hingegeben, und nie in seinem Leben nach etwas Anderem getrachtet oder etwas Anderes besitzen wollen.

In der Bibliothek des verstorbenen Gelehrten haben sich unter anderem auch die Schriften des Aristoteles vorgefunden, und die Bände tragen unverkennbare Spuren häufigen Gebrauches an sich. An vielen Stellen finden sich eigenhändige Randbemerkungen Nencki's, die noch aus der Zeit herrühren, wo die Philologie sein Fachstudium war. Unter den unterstrichenen Gedanken des grossen Philosophen springt besonders einer in die Augen: **ἡ τοῦ νου ἐνέργεια κατὰ τὴν οἰκείαν ἀρετὴν εἴη ἂν ἡ τελεία εὐδαιμονία** (ista mentis energia, quae a propria virtute proficiscitur, perfecta beatitudo erit; Ethica X, 7). Und in der That kann man mit Recht behaupten, dass sich in Nencki der Begriff eines idealen Priesters der Wissenschaft verkörpert habe.

Seine Arbeit führte zu namhaften Erfolgen: Aller Augen wandten sich dem jugendlichen Forscher zu, der schnellen Schrittes alle Staffeln der akademischen Laufbahn erstieg. Zunächst war er als Privatdocent, dann als Honorarprofessor thätig, bis er im Jahre 1876 zum ausserordentlichen Professor ernannt wurde. Im folgenden Jahre wurde von der Regierung an der Universität Bern ein neuer Lehrstuhl für physiologische Chemie errichtet und als erster Inhaber nahm ihn Nencki ein, der zugleich zum Professor ordinarius vorrückte. Auch die Räumlichkeiten seines Laboratoriums erfuhren eine Erweiterung, blieben aber dessen ungeachtet beengt, und zwar namentlich in Folge des ununterbrochenen starken Zustromes lernbegieriger Schüler aus aller Herren Länder. Im Jahre 1888 wurde ein neues Laboratorium für Nencki in Bern erbaut. In demselben Jahre wurde Nencki beauftragt, auch über Bacteriologie Vorlesungen zu halten, da ihm auch in diesem Wissenszweige seine Arbeiten einen vortheilhaften Ruf erworben hatten. Nach dem Tode von R. Maly übernimmt Nencki gemeinschaftlich mit Prof. Andreasch im Jahre 1890 die Herausgabe des Jahresberichts für Thierchemie, den er bis zum Ende seines Lebens redigirt hat.

Im Jahre 1891 trat an Nencki die Aufforderung heran, die Leitung der chemischen Abtheilung des Kaiserlichen Instituts für Experimentalmedicin zu St. Petersburg in die Hand zu nehmen, und die ihm hier gebotene Möglichkeit, sich ungetheilt der wissenschaftlichen Forschung im Laboratorium hinzugeben, ohne durch sonstige Verpflichtungen oder Arbeiten abgelenkt zu werden, bewog ihn, Bern zu verlassen. Es darf wohl als ausgemacht gelten, dass für den erspriesslichen Fortgang der Untersuchungen auf wissenschaftlichem Gebiete, die in einem Laboratorium vorgenommen werden, die Begabung und das Talent des Leiters schwerer ins Gewicht fallen, als die reiche Ausstattung. Allein die Zeiten, wo man auch mit bescheidenen Hülfsmitteln glänzende Entdeckungen machen konnte, gehören schon längst der Vergangenheit an. Heut zu Tage bedarf man zu biologischen Untersuchungen kostspieliger Apparate, die Beobachtungen müssen sich auf eine lange Reihe von Thierversuchen stützen und all das erfordert einen beträchtlichen Aufwand an materiellen Mitteln. Gerade in dieser Hinsicht aber konnte wohl Bern Nencki's berechtigten Ansprüchen nicht völlig genügen und man kann sich leicht eine Vorstellung davon machen, in welch peinlicher Situation sich der Forscher be-

findet, wenn er nicht in der Lage ist, diese oder jene Versuche anzustellen, dui
die er seine theoretischen Sätze stützen könnte. In St. Petersburg durfte Nenc
von der Erbauung des Laboratoriums an alles nach seinem Sinne neu einricht
andererseits aber musste er sich in ungewohnte Verhältnisse und mit neu
Menschen einleben. Doch Dank seiner Thatkraft herrschte auch hier bald reg
Leben und intensive Thätigkeit, sowohl innerhalb des Laboratoriums, als auch, wei
es galt, eine Infectionskrankheit an Ort und Stelle zu studiren.

In der Blüthe seiner Arbeitskraft wurde Nencki vom Tode ereilt. Noch a
dem Sterbebette drehten sich seine Gedanken um das Laboratorium, und er entwa
Pläne zu neuen Arbeiten, die er in Angriff zu nehmen gedachte. Er starb a
14. October 1901 in St. Petersburg. Als Todesursache nennt das Sectionsprotokol
cancer ventriculi cum haemorrhagia ex ulceratione neoplasmatis, anaemia unive
salis. Die sterbliche Hülle des Verblichenen wurde seinem Wunsche entsprechei
nach Warschau übergeführt und dort auf dem evangelisch-reformirten Friedho
der Erde übergeben.

---

Wollen wir Nencki als Gelehrten würdigen, so müssen wir sagen, dass
als typische Gestalt eines von philosophischen Ideen geleiteten Experimentators v
uns dasteht. In seinen Erwägungen stützte er sich ausschliesslich auf unerschütte
liche Thatsachen und leitete unmittelbar aus diesen seine Folgerungen ab. Er w
kein Freund von allgemeinen Theorien, die sich nur schwer unwiderleglich b
gründen lassen. In Wort und Schrift befleissigte er sich bei möglichster Verständ
lichkeit und Anschaulichkeit lakonischer Knappheit, und diese Eigenschaft komn
in allen seinen Werken zum Vorschein. Einer von den charakteristischen Züge
im Wesen Nencki's war auch sein starker unbeugsamer Wille, den er überall a
den Tag gelegt hat. Nahm er die Lösung eines Problems in Angriff, so verfolg
er ohne Schwanken die Bahn zum vorgesteckten Ziele, ohne auch vor den grösste
Schwierigkeiten zurückzuweichen; wenn ihm dieser oder jener Versuch fehlgeschlag
war, ersann er neue Untersuchungsmethoden und spannte alle seine Geisteskräf
aufs Aeusserste an, um der Wahrheit auf den Grund zu kommen. Bisweilen gi
er nach Verlauf mehrerer Jahre auf ein früher bearbeitetes Thema zurück, um
dabei ermittelten Sätze nachzuprüfen und zu ergänzen, durch neue Versuche
stützen und ihre Bedeutung zu erweitern.

Höchste Bewunderung erregt auch die durch ein phänomenales Gedächtn
bedingte Gelehrsamkeit, über die Nencki verfügte. Es ist in der That schwer
verstehen, wie er eine solche Fülle von Facten im Sinne zu behalten vermoch
um so mehr, als er sich ihrer nicht etwa bloss in allgemeinen Umrissen, sond
mit allen ihren Details und Einzelheiten erinnerte, gleichviel, ob es sich um ein
Laboratorium angewandtes Verfahren handelte, oder um eine vor längerer Zeit g
lesene Abhandlung. Dabei darf man es nicht ausser Acht lassen, dass das Gebi
das Nencki's Kenntnisse umspannten, überaus umfangreich und seinem Inha
nach heterogen war, denn es umfasste die organische und die physiologische Chen
und überdies in weiten Grenzen noch die Bacteriologie, die Hygiene, die Pharn
kologie u. s. w.

Mit diesen Vorzügen und Gaben verband Nencki eine erstaunliche Arbeitslust. Gewöhnlich betrat er sein Laboratorium schon um 8 Uhr Morgens und pflegte es, nach höchstens einstündiger Unterbrechung für Mittagbrot, erst um 6 Uhr Abends zu verlassen. Die Abende widmete er meist der Lectüre oder der schriftlichen Ausarbeitung seiner Ergebnisse. Dann und wann aber unternahm er auch nach Abschluss der Tagesarbeit in Begleitung von Collegen oder Schülern Spaziergänge, und dabei entspannen sich dann lebhafte Erörterungen über die angestellten Beobachtungen, es wurde der Arbeitsplan für den nächsten Tag besprochen, neue Untersuchungen in Aussicht genommen und skizzirt, oder Anschauungen und Hypothesen in Betreff bedeutsamer wissenschaftlicher Probleme discutirt. So löste in rastloser Arbeit ein Tag den anderen ab, und nur im Sommer gönnte sich Nencki etwa zwei Monate Ferien zu körperlicher Erholung. So war es in Bern, so war es später in St. Petersburg, und so blieb es bis an sein Lebensende, d. h. 30 Jahre hindurch.

Als Docent legte Nencki wenig Gewicht auf den äusseren Schmuck der Rede, aber er riss seine Zuhörer durch den tiefen inneren Gehalt seiner Vorlesungen hin. Der von ihm vorgetragene Cursus wurde Jahr für Jahr in mehr oder minder weitem Umfange umgearbeitet, denn der Professor hielt es für seine Pflicht, seine Schüler stets mit dem Neuesten in Betreff jeder wissenschaftlichen Frage bekannt zu machen, und unterliess es dabei nicht, jede neue Untersuchung oder Entdeckung von Wichtigkeit zu beleuchten. Vor allen Dingen aber entwickelte Nencki seine Lehrthätigkeit am Laboratoriumstische, indem er zeigte, wie man die Thatsachen beobachten muss und welche Folgerungen man darauf bauen dürfe. Er ermuthigte seine zahlreichen Schüler zu selbstständiger Arbeit und Gedankenthätigkeit, freute sich, wenn er sah, dass Jemand das Wesen der gerade vorliegenden wissenschaftlichen Frage erfasst und völlig durchdrungen hatte: dann überliess er sie ihm gern zu weiterer Bearbeitung. Er durfte sich ja auch in dieser Hinsicht die grösste Liberalität gestatten, denn es gebrach ihm nie an Ideen zu neuen Arbeiten, so dass er sich ungeachtet der grossen Zahl der in seinem Laboratorium Beschäftigten nicht selten über Mangel an Arbeitskräften beklagte.

Als Mensch war Nencki überaus anspruchslos in seinem Auftreten, und ohne Rücksicht auf ihre gesellschaftliche Stellung legte er allen Menschen gegenüber, mit denen er in Berührung kam, das gleiche Wesen an den Tag. Neminem laede, sed omnes quantum potes juva, sagte er bisweilen, und dies Princip diente ihm auch stets als Richtschnur für seine Handlungen.

# Systematisches Verzeichniss der Arbeiten.

In der vorliegenden Gruppirung sind ihrem Inhalte nach die Untersuchunge von Prof. **Nencki** und seinen Schülern in einzelne Abtheilungen zusammengestell Jede Abtheilung enthält Titel der entsprechenden Arbeiten, das Jahr des Erscheine und die Angabe des Bandes und Seite, wo sie in dieser Sammlung zu finden sin Freilich, in manchen Fällen war es schwierig, einige von diesen Arbeiten zu ein bestimmten Abtheilung zu rechnen. Einige von ihnen mussten ihrem Inhalte nac in zwei Gruppen erwähnt werden. In jedem Fall glauben wir, dass ein solch systematisches Verzeichniss dem Leser bei Benutzung dieses Werkes eine Erleic terung bringen kann.

## I. Arbeiten aus dem Gebiete der organischen Chemie.

### 1. Untersuchungen über den Sulfoharnstoff und seine Verbindungen.

| | |
|---|---|
| Sulfopseudoharnsäure und ihre Derivate: Sulfodialursäure, Urosulfinsäure. | 1871, 1872. Untersuchungen über d Harnsäuregruppe von **Nencki**, 1. 2. Mitth. **1**, 33 u. 36. |
| Constitution der Sulfopseudoharnsäure. | 1883. Ueber die Einwirkung der Dibrom barbitursäure auf Sulfoharnstoff u. s. w von **Trzciński**, **1**, 708. |
| Verbindung des Sulfoharnstoffs mit Cyanquecksilber. Acetylsulfoharnstoff. | 1873. Zur Kenntniss des Sulfoharnstof von **Nencki**, **1**, 52. |
| Diäthylidensulfoharnstoff. | 1874. Ueber einige Verbindungen des A dehyds von **Nencki**, **1**, 74. |
| | 1874. Ueber Sulfoharnstoff-Oxalsäureäth von **Nencki**, **1**, 83. |
| Sulfoharnstoff der Methylacetylencarbonsäure. Sulfuvinursäure. Ansichten über die Constitution des Sulfoharnstoffs. | 1882. Ueber zwei neue Derivate des Sul harnstoffs von **Nencki** u. **Siebe** **1**, 613. |

## 2. Untersuchungen über Sulfocyansäure und ihre Salze.

| Gegenstand | Jahr | Arbeit |
|---|---|---|
| Acetylpersulfocyansäure. | 1873. | Ueber die Einwirkung des Essigsäureanhydrids auf Rhodanammonium von Nencki u. Leppert, 1, 54. |
| Rhodaninsäure. Die Farbstoffe der Rhodaninsäure. | 1877. | Ueber die Einwirkung der Monochloressigsäure auf Sulfocyansäure und ihre Salze von Nencki, 1, 275. |
| rbindungen der Rhodaninsäure (Benzyliden- und Aethylidenrhodaninsäure). Constitution der Rhodaninsäure. | 1884. | Ueber die Rhodaninsäure von Nencki, 1, 780. |
| altungsproducte der Rhodaninsäure: Disulfidglycolsäure. | 1886. | Ueber die Rhodaninsäure von Ginsburg u. Bondzyński, 2, 10. |
| altungsproducte der Benzylidenrhodaninsäure: Benzylidenrhodaninoxysulfonsäure, Sulfhydrylzimmtsäure und Derivate der letzteren. | 1887. | Ueber Sulfhydrylzimmtsäure und einige ihrer Derivate von Bondzyński, 2, 72. |
| mologe Verbindung der Rhodaninsäure. | 1886. | Ueber ein Homologes der Rhodaninsäure von Berlinerblau, 2, 19. |
| Carbaminsulfoessigsäure. | 1877. | Ueber die Einwirkung der Monochloressigsäure auf Sulfocyansäure u. s. w. von Nencki, 1, 275. |
| | 1878. | Bemerkung über die Carbaminsulfoessigsäure von Nencki, 1, 353. |
| Phenyl- und Toluylsulfohydantoinsäure. | 1877. | Die Einwirkung der Monochloressigsäure auf Rhodansalze der aromatischen Monamine von Jäger, 1, 286. |
| Verbindung der Sulfocyansäure mit Trichloräthylidenchlorid. | 1878. | Ueber die Einwirkung von Chloralhydrat auf Rhodanammonium von Nencki u. Schaffer, 1, 416. |
| Rhodanbarbitursäure. | 1883. | Ueber die Einwirkung der Dibrombarbitursäure u. s. w. von Trzciński, 1, 708. |

## 3. Studien über Reactionen mit Aldehyden.

| Gegenstand | Jahr | Arbeit |
|---|---|---|
| thylidenbenzamid, Aethylidenurethan, Diäthylidensulfoharnstoff. | 1874. | Ueber einige Verbindungen des Aldehyds von Nencki, 1, 74. |
| | 1881. | Zur Kenntniss des Urethans von Schmid, 1, 600. |
| nzylidenthiobiuret. | 1887. | Ueber die Einwirkung der Aldehyde auf Rhodanammonium von Brodsky, 2, 60. |
| thylenharnstoff. | 1888. | Ueber die Condensationsproducte von Formaldehyd mit Harnstoff und Sulfoharnstoff von Polikier, 2, 97. |
| itrobenzylidendiureid. | 1889. | Ueber einige aldehydische Condensationsproducte des Harnstoffs und den Nachweis des letzteren von Lüdy, 2, 138. |

| | | |
|---|---|---|
| Benzylidenbiuret, Chlorbenzylidenbiuret. | [illegible] | Ueber Benzylidenbiuret und Chlorbenzylidenbiuret von Abel, 2, [illegible]. |

## 4. Untersuchungen über das Guanidin.

### a) Guanamine.

| | | |
|---|---|---|
| Acetoguanamin (Methylenguanamin), seine Salze und Spaltungsproducte (Guanid, Guanamid). | 1874. | Ueber das Guanamin von Nencki, 1, 7[illegible]. |
| | 1876. | Ueber die Spaltungsproducte des Acetoguanamins von Nencki, 1, 1[illegible]. |
| Formoguanamin. | 1874. | Ueber die Guanidinderivate von Nencki, 1, 84. |
| Butyro- und Isobutyroguanamin. | 1876. | Ueber das Propylen- und das Isopropylenguanamin von Nencki, 1, 153. |
| Valero- und Caproguanamin. | 1876. | Ueber die Condensationsproducte des valeriansauren und capronsauren Guanidins von Bandrowski, 1, 15[illegible]. |
| Propio- und Oenanthoguanamin. Anwendung der Guanamine zur Erkennung der flüchtigen Fettsäuren. | 1891. | Zur Kenntniss der Guanamine von Haaf, 2, 229; vergl. auch 1, 201. |
| Ansichten über die Constitution der Guanamine und der Cyansäure. | 1876. | Ueber die Constitution der Guanamine und der polymeren Cyanverbindungen von Nencki, 1, 16[illegible]. |
| | 1876. | Zur Frage über die Constitution der Guanamine u. s. w. von Nencki, 1, 174. |
| | 1876. | Entgegnung von Nencki, 1, 179. |

### b) Andere Verbindungen und Derivate des Guanidins.

| | | |
|---|---|---|
| Guanidodikohlensäureäther und Guanolin. | 1874. | Ueber die Guanidinderivate von Nencki, 1, 84. |
| | 1878. | Ueber Guanidinkohlensäureäther von Nencki, 1, 399. |
| Melamin und Zersetzungsproducte des Melams. | 1878. | Bildung des Melamins aus Guanidin von Nencki, 1, 397. |
| | 1876. | Untersuchungen über die Zersetzungsproducte des Melams von Jäger, 1, 227. |
| Guanidinessigsäure. | 1878. | Ueber eine neue Synthese des Glycocyamins von Nencki u. Sieber, 1, 402. |
| Biuretdicyanamid. | 1883. | Ueber Biuretdicyanamid von Rasiński, 1, 707. |

Zu den oben erwähnten Gruppen gehören auch folgende Arbeiten.

1872. Untersuchungen über die Harnsäuregruppe. 3. Mitth. von Nencki, 1, 38.

1878. Leichte Darstellung des Milchsäuretrichloräthylidenäthers von Nencki, 1, 400.

1879. Vortheilhafte Darstellung der Phenolglycolsäure und über die Pyrogallotriglycolsäure von Giacosa, **1**, 450.

1880. Ueber das Salireton von Giacosa, **1**, 550.

1883. Eine neue Darstellungsweise des Glycocolls von Nencki, **1**, 707.

1884. Ueber Muscarin von Berlinerblau, **1**, 779.

## 5. Untersuchungen über die Condensationen der Phenole.

### a) Synthese der aromatischen Oxyketone.

ιcetophenon.
:inylfluoresceïn (Succinyleosin).

tere Producte bei der Condensation
:s Resacetophenons: Resaceteïn,
cetfluoresceïn.
acetophenon.
ıacetophenon.
ıng der Aurine (Resaurin).
n, Kresolaurin, Orcinaurin.
ıaceteïn, Orcaceteïn.

ionylphenol, Propionylresorcin,
opionylhydrochinon, Propionyl-
Naphtol, Butyryl-α-Naphtol, Iso-
tyryl-α-Naphtol.

cyanin.

endigalleïn, Gallacetonin.

1881. Ueber die Verbindungen der ein- und zweibasischen Fettsäuren mit Phenolen. 1. Mitth. von Nencki u. Sieber, **1**, 571.

1881. 2. Mitth. von Nencki u. Sieber, **1**, 587.

1881. 3. Mitth. von Nencki u. Schmid, **1**, 593.

1882. 4. Mitth. von Nencki, **1**, 624.

1882. Ueber die Condensationsproducte aus Phenolen und Essigsäure u. s. w. von Rasiński, **1**, 678.

1889. Ueber die Verbindungen der flüchtigen Fettsäuren mit Phenolen von Nencki, **2**, 125.

1891. Ueber einige Oxyketone aus Fettsäuren und Phenolen von Goldzweig u. Kaiser, **2**, 236.

1881. Ueber die Einwirkung der Schwefelsäure auf Citronensäure und Resorcin von Wittenberg, **1**, 604.

1882. Ueber eine neue Bildungsweise des Resocyanins von Schmid, **1**, 620.

1882. Ueber Resocyanin und die Einwirkung von Acetessigäther auf die Phenole u. s. w. von Wittenberg, **1**, 679.

1882. Bemerkungen über zwei chemische Publicationen von Nencki, **1**, 621.

### Anwendung des Phosphoroxychlorids und Synthese der ätherartigen Verbindungen.

phenyloxalsäureäther.

1882. Ueber die Verbindungen der ein- und zweibasischen Fettsäuren mit Phenolen, 4. Mitth. von Nencki, **1**, 624.

Orcacetophenon.

Phenolbenzoësäureäther, Diphenylbernsteinsäureäther, Resorcindibenzoësäureäther, Orcindibenzoësäureäther.

1882. Ueber die Condensationsproducte aus Phenolen und Essigsäure und über eine einfache Darstellungsmethode der Säureäther der Phenole von Rasiński, 1, 678.

Synthese der Salole.

1886—1892. Verfahren zur Darstellung der Salicylsäureester der Phenole und Naphtole, genannt „Salole" von Nencki u. Heyden, 2, 65, 96, 126, 264, 373 u. 374.

1889. Les salicylates des crésols p. Nencki, 2, 124.

Darstellung des Malachitgrüns.

1888. Leichte Darstellung der Leukobase des Malachitgrüns von Nencki, 2, 88.

c) Gleichzeitige Einwirkung von Chlorzink und Phosphoroxychlorid.

Bildung der aromatischen Carbonsäuren: Toluylsäure, Xylylsäuren.

1891. Ueber eine neue Bildungsweise aromatischer Carbonsäuren von Frey u. Horowitz, 2, 245.

Darstellung der Polyoxyketone: Resodiacetophenon, Gallodiacetophenon, Gallacetobenzophenon.

1891. Untersuchungen über die aromatischen Oxyketone von Crépieux, 2, 253.

1893. Die Synthese der aromatischen Oxyketone von Nencki, 2, 355.

d) Condensationen mit halogensubstituirten Fettsäuren.

Chlor- u. Bromgallacetophenon, Chlor- u. Bromacetobrenzcatechin u. s. w.

1893. Die Synthese der aromatischen Oxyketone von Nencki, 2, 355.

1893. Ueber die Synthese einiger Ester und Ketone aus Phenolen und halogensubstituirten Fettsäuren von Dzierzgowski, 2, 367.

1894. Zur Kenntniss der aus Phenolen und halogensubstituirten Fettsäuren erhaltenen Ester und Ketone von Dzierzgowski, 2, 461.

1894. Ueber die Stellung der Seitenketten zu den Ketonen aus Pyrogallol von Nencki, 2, 470.

Anwendung der polyhalogensubstituirten Fettsäuren.

1901. Beiträge zur Kenntniss der gechlorten Oxyketone der aromatischen Reihe von Bruhns, 2, 823.

e) Untersuchungen über die basischen Producte der chlorsubstituirten Ketone.

Einwirkung von Ammoniak, Methylamin, Dimethylamin, Anilin, Methylanilin u. s. w.

1893. Ueber einige basische Derivate des Chloracetobrenzcatechins und Chlorgallacetophenons von Dzierzgowski, 2, 369.

Condensationen mit Chinolin.

1894. Synthesen hydroxylirter aromatischer Basen von Nencki, 2, 449.

ynthese der Aldehyde mit Basen.



f) Synthesen mittelst Eisenchlorid.

rstellung der Ketone: Benzophenon, p-Oxyacetophenon u. s. w.



Tertiäres p-Butyltoluol.



Acetsalicylsäure.



Verlauf der Reactionen mittelst Eisenchlorid.



Die Frage der Condensation der Phenole betreffen auch folgende Arbeiten:

1900. Ueber die Einwirkung von Hydrazin auf die aromatischen Oxyketone von Prinz, **2**, 790.

Zu den chemischen Arbeiten gehören noch folgende:

1872. Ueber die Reduction der Mononitronaphtoësäure von Rakowski, **1**, 49.
1887. Indol aus Dichloräther und Anilin von Berlinerblau, **2**, 70.
1887. Ueber die bei der Indolbildung aus Dichloräther und aromatischen Aminen entstehenden Zwischenproducte von Berlinerblau u. Polikier, **2**, 71.
1887. Verfahren zur Darstellung von Indol und Methylketol von Nencki und Berlinerblau, **2**, 72.
1889. Die Prüfung der käuflichen Reagentien zur Elementaranalyse auf ihre Reinheit von Nencki, **2**, 122.
1890. Bestimmung des Molekulargewichtes der Cholalsäure, des Cholesterins und des Hydrobilirubins nach der Raoult'schen Methode von Abel, **2**, 145.
1893. Ueber die Lanolinbestimmung von Dzierzgowski, **2**, 374.
1893. Ueber die Verbindungen der Pikrinsäure mit Phenolen und Ketonen von Goedike, **2**, 438.

# II. Physiologisch-chemische Arbeiten.

## 1. Verhalten aromatischer Körper im thierischen Organismus.

### a) Oxydation von Kohlenwasserstoffen und einigen anderen Verbindungen im thierischen Organismus.

Versuche mit Saligenin, Phtalsäure und Tyrosin.

1870. Die Oxydation der aromatischen Verbindungen im Thierkörper von Nencki, **1**, 17.

Oxydation des Cymols.

1872. Die Oxydation des Camphercymols im Thierkörper von Nencki und Ziegler, **1**, 41.

Oxydation des Mesitylens.

1873. Ueber das Verhalten einiger aromatischer Verbindungen im Thierkörper von L. Nencki, **1**, 58.

Verhalten von Aethylbenzol, Propyl- und Isopropylbenzol, Butylbenzole und Benzol.

1880. Ueber die Oxydation der aromatischen Kohlenwasserstoffe im Thierkörper von Nencki u. Giacosa, **1**, 508.

| | |
|---|---|
| Verhalten von Phenol. | 1878. Ueber die Ausscheidung des dem Thierkörper zugeführten Phenols von Schaffer, **1**, 411. |
| α- und β-Naphtol. | 1886. Ueber das Verhalten des α- und des β-Naphtols im Organismus von Leśnik u. Nencki, **2**, 24. |

b) Untersuchungen über das Verhalten von Benzol im thierischen Organismus und über die physiologische Oxydation.

| | |
|---|---|
| heorie der Anwesenheit des „activen" Sauerstoffs im Thierkörper. | 1880. Ueber die Oxydation des Benzols durch Ozon und die Oxydationen im Thierkörper von Nencki u. Giacosa, **1**, 517. |
| | 1880. Zur Geschichte der Oxydationen im Thierkörper von Nencki, **1**, 561. |
| | 1881. Ueber die physiologische Verbrennung von Nencki, **1**, 568. |
| | 1881. Berichtigung von Nencki, **1**, 571. |
| ersetzungen unter dem Einflusse von Alkalien. | 1881. Ueber die Zersetzung des Traubenzuckers und der Harnsäure durch Alkalien bei der Bruttemperatur von Nencki u. Sieber, **1**, 607. |
| Oxydationsprocesse bei den Diabetikern. | 1882. Untersuchungen über die physiologische Oxydation von Nencki u. Sieber, **1**, 643. |
| Oxydationsprocesse bei den Leukämischen. | 1882. Ueber das Vorkommen von Milchsäure im Harn bei Krankheiten und die Oxydationen in den Geweben der Leukämischen von Nencki u. Sieber, **1**, 670. |
| Messungen der Intensität der physiologischen Oxydationen. | 1883. Ueber eine neue Methode, die physiologische Oxydation zu messen und über den Einfluss der Gifte und Krankheiten auf dieselbe von Nencki u. Sieber, **1**, 683. |
| | 1884. Ueber den Einfluss des Alkohols und des Morphiums auf die physiologische Oxydation von Simanowsky u. Schumoff, **1**, 774. |

c) Verhalten der aromatischen Ester im thierischen Organismus.

| | |
|---|---|
| Versuche mit Tribenzoicin, Bernsteinsäurephenolester, Phenolbenzoësäureester. | 1885. Ueber die Spaltung der Säureester der Fettreihe und der aromatischen Verbindungen im Organismus und durch das Pankreas von Nencki, **1**, 822. |
| Spaltung der Salole. | 1887. Ueber die Spaltung des Salols mit Rücksicht auf dessen therapeutische Verwerthung zu innerlichem und äusserlichem Gebrauch von Sahli, **2**, 51. |

| | |
|---|---|
| | 1887. Ueber die Spaltung des Salols durch Alkalicarbonate und thierische Gewebe von Nencki, **2**, 61. |
| Ester der Salicylsäure mit α- und β-Naphtol, Thymol, α-Dioxynaphtalin, Hydrochinon. | 1887. Ueber einige Ester der Salicylsäure und ihr Verhalten im Organismus von Leśnik, **2**, 65. |
| Spaltung der salicylsauren Kresole. | 1889. Dissertation von Zimmerli, **2**, 142. |
| Spaltung der Chlorsalole. | 1893. Ueber die desinficirende Wirkung der drei isomeren Chlorphenole, ihrer Salicylsäureester und ihr Verhalten im Organismus von Karpow, **2**, 440. |
| Spaltung des Fettes. | 1889. Ueber die Spaltung des Fettes in den Geweben und das Vorkommen von freien Fettsäuren in denselben von Lüdy, **2**, 140. |

d) Verhalten der Ketone im thierischen Organismus.

| | |
|---|---|
| Acetophenon. | 1878. Die Oxydation des Acetophenons im Thierkörper von Nencki, **1**, 415. |
| Resacetophenon, p-Oxypropiophenon, Gallacetophenon. | 1894. Ueber das Verhalten der aromatischen Oxyketone im Thierkörper von Nencki, **2**, 466. |

e) Untersuchungen über das Verhalten im Organismus von:

| | |
|---|---|
| Antipyrin, | 1886. Ueber den Einfluss des Antipyrins auf die Stickstoffausscheidung von Umbach, **2**, 27. |
| Nitrobenzaldehyde, | 1887. Ueber das Verhalten der drei isomeren Nitrobenzaldehyde im Thierkörper von Sieber u. Smirnow, **2**, 66. |
| o-Oxychinolincarbonsäure, | 1888. Ueber das Verhalten der o-Oxychinolincarbonsäure und deren Derivate im Organismus von Królikowski u. Nencki, **2**, 89. |
| Amidosalicylsäuren, | 1889. Ueber das Verhalten der Amidosalicylsäuren im Organismus von Pruszyński, **2**. 141. |
| Anilidmethylsalicylsäure, α-Oxyuvitinsäure, Aethyläther der α-Oxyuvitinsäure. | 1895. Ueber das Verhalten und die topographische Vertheilung einiger aromatischen Verbindungen im Thierkörper von Suck, **2**, 549. |

f) Ermittelung der chemischen Constitution durch Verhalten im Thierorganismus.

| | |
|---|---|
| | 1890. Zur Frage über die Constitution des Carbonyl-o-Amidophenols von Gressly u. Nencki, **2**, 152. |

### g) Pharmakologische Untersuchungen.

| | |
|---|---|
| Einfluss des Carboxyls auf Verminderung der Giftigkeit: o-oxycarbanilcarbonsäure und Carbonyl-o-Amidophenol; Malonanilsäure und Acetanilid; p-Phenacetincarbonsäure und Phenacetin. | 1892. Ueber den Einfluss der Carboxylgruppe auf die toxische Wirkung aromatischer Substanzen von Nencki u. Boutmy, **2**, 255. |
| Gallacetophenon. | 1891. Das Gallacetophenon als Ersatz des Pyrogallols von Rekowski, **2**, 226. |
| Verhalten im Organismus von Salicylphenacetin, Cinnamylphenetol, Anilidacetobrenzcatechin, Anilidacetopyrogallol. | 1893. Beiträge zur Pharmakologie und Pharmacie einiger aromatischer Verbindungen von Schubenko, **2**, 372. |
| Verhalten von Phenolwismuth, Tribromphenolwismuth, m-Kresolwismuth, $\beta$-Naphtolwismuth. | 1893. Beiträge zur pharmakologischen und therapeutischen Wirkung der Wismuth-Phenolverbindungen von Jasieński, **2**, 439. |
| Chlor- und Bromphenole. | 1893. Behandlung des Erysipels durch Chlor- und Bromphenole von Tschurilow, **2**, 441. |
| Chlorphenolwismuth, Chlorphenolcarbonat, Pyrogallolwismuth. | 1894. Beiträge zur Pharmakologie des o- und p-Chlorphenolwismuths, Chlorphenolcarbonats und Pyrogallolwismuths von Wifansky, **2**, 495. |
| Wirkung von Superoxyden: Benzoylsuperoxyd und Calciumsuperoxyd. | 1899. Ueber das Verhalten des Benzoyl- und des Calciumsuperoxyds im Verdauungscanal des Menschen und des Hundes von Nencki u. Zaleski, **2**, 666. |
| | 1901. Ueber das Calciumsuperoxyd (Gorit) und seine therapeutische Anwendung von Hornstein, **2**, 863. |

## 2. Bildung des Harnstoffs im thierischen Organismus.

### a) Verhalten des Glycocolls und Leucins im Organismus.

| | |
|---|---|
| | 1869. Die Vorstufen des Harnstoffs im Organismus von Schultzen und Nencki, **1**, 1. |
| | 1880. Zur Abwehr von Nencki, **1**, 521. |
| Theorie der Synthesen im thierischen Organismus mit Austritt des Wassers. Bildung des Harnstoffs aus carbaminsaurem Ammon (Theorie von Schultzen-Nencki). | 1872. Die Wasserentziehung im Thierkörper von Nencki, **1**, 43. |
| | 1875. Ueber den chemischen Vorgang bei der Bildung der Hippursäure im Thierkörper von Spengel, **1**, 148. |

b) Die Rolle der Leber bei der Bildung des Harnstoffs.

1892. Die Eck'sche Fistel zw
unteren Hohlvene und de
und ihre Folgen für den C
von Hahn, Massen, N
Pawlow, **2**, 290.

1895. Ueber den Ammoniakg
Blutes und der Organ
Harnstoffbildung bei Sä
von Nencki, Pawlow u
**2**, 525.

1896. Zur Frage über den Ort
stoffbildung bei den Sä
von Nencki u. Pawlow

1898. Ueber die Bildung von H
der Leber der Säugethiere
säuren der Fettreihe von
**2**, 635.

1898. Ueber das Ammoniak in
scher und pathologischer H
die Rolle der Leber im S
stickstoffhaltiger Substanze
laskin, **2**. 636.

1900. Ueber den Einfluss der L
pation auf den Stoffwechse
den von Salaskin u. Z
762.

1901. Ueber die Vertheilung d
niaks im Blute und de
normaler und hungernder
Horodyński, Salaski
leski, **2**. 817.

1901. Ueber die Bildung von
in der Leber der Vögel v
lewski u. Salaskin, **2**,

c) Methode der Ammoniakbestimmung.

1895. Ueber die Bestimmung d
niaks in thierischen Fl
und Geweben von Nenc
leski, **2**, 518.

1901. Ueber die Bestimmung d
niaks in thierischen Flüssig
Geweben von Nencki u.
**2**, 806.

d) Specielle Untersuchungen über den Harnstoff.

Qualitative Bestimmung.

1889. Ueber einige aldehydisch
sationsproducte des Harn
den Nachweis des letz
Lüdy, **2**, 138.

| | |
|---|---|
| | 1895. Ueber das Vorkommen von Harnstoff im Muskel der Säugethiere von Nencki u. Kowarski, **2**, 551. |
| Quantitative Bestimmung. | 1899. Ueber die Harnstoffbestimmung im Harne von Salaskin u. Zaleski, **2**, 682. |
| | 1901. Ueber die quantitative Harnstoffbestimmung mittelst Halogenwasserstoffsäuren von Stankiewicz, **2**, 822. |

## 3. Untersuchungen über den Blutfarbstoff.

### a) Untersuchungen über das Hämoglobin.

| | |
|---|---|
| Darstellung der unlöslichen Modification der Oxyhämoglobinkrystalle. | 1885. Ueber das Parahämoglobin von Nencki, **1**, 795. |
| Venöse Hämoglobinkrystalle. | 1886. Venöse Hämoglobinkrystalle von Nencki u. Sieber, **2**, 21. |
| | 1886. Berichtigung von Nencki u. Sieber, **2**, 23. |
| Versuche mit der Spaltung des Hämoglobins und des Kohlenoxydhämoglobins. | 1887. Ueber die Menge des bei der Spaltung des Hämoglobins in Eiweiss und Hämatin aufgenommenen Sauerstoffs von Lebensbaum, **2**, 42. |

### b) Untersuchungen über das Hämin und das Hämatin.

| | |
|---|---|
| Anwendung des Amylalkohols zur Darstellung der Häminkrystalle. Zusammensetzung des Hämins und des Hämatins. Einwirkung der reducirenden und oxydirenden Agentien auf den Blutfarbstoff (Hexahydrohämatoporphyrin). Beziehungen des Blutfarbstoffs zu den Gallenfarbstoffen. | 1884. Untersuchungen über den Blutfarbstoff von Nencki u. Sieber, **1**, 745. |
| | 1885. Ueber das Hämin von Nencki u. Sieber, **1**, 789. |
| | 1887. Ueber die Blutfarbstoffe von Nencki, **2**, 29. |
| | 1893. Sur la composition chimique de l'hématine et de l'hématoporphyrine p. Nencki, **2**, 375. |
| | 1896. Ueber die chemische Zusammensetzung des nach verschiedenen Methoden dargestellten Hämins und Hämatins von Białobrzeski, **2**, 572. |
| | 1897. Ueber das Nichtvorkommen des Argons im Blutfarbstoffe von Zaleski, **2**, 601. |
| Darstellung von den Aethern des Hämins. | 1900. Untersuchungen über den Blutfarbstoff von Nencki u. Zaleski, **2**, 728. |

### c) Untersuchungen über die Porphyrine.

| | |
|---|---|
| Anwendung des mit HBr gesättigten Eisessigs zur Darstellung des Hämatoporphyrins. Beziehung zum Bilirubin. | 1888. Ueber das Hämatoporphyrin von Nencki u. Sieber, **2**, 74. |
| | 1889. Zur Kenntniss des Hämatoporphyrins und des Bilirubins von Nencki u. Rotschy, **2**, 127. |

| | |
|---|---|
| | 1893. Sur la composition chimiq l'hématine et de l'hématoporp p. Nencki, **2**, 375. |
| Darstellung von den Aethern des Hämatoporphyrins. | 1900. Untersuchungen über den Bl stoff. Zur Kenntniss des H porphyrins von Nencki u. Za **2**, 753. |
| Darstellung des Mesoporphyrins und des Hämopyrrols. | 1901. Ueber die Reductionsproduct Hämins durch Jodwasserstof Phosphoniumjodid und über di stitution des Hämins und sein rivate von Nencki u. Zaleski, |

d) Beziehungen des Blutfarbstoffs zum Blattfarbstoff.

| | |
|---|---|
| | 1896. Ueber die biologischen Bezieh des Blatt- und des Blutfarbsto Nencki, **2**, 573. |
| | 1901. Zur Chemie des Chlorophylls. bau des Phyllocyanins zum : pyrrol von Nencki u. Marchle **2**, 804. |

e) Andere Farbstoffe des thierischen Organismus.

| | |
|---|---|
| Chorioidea- und Haarpigment. | 1885. Ueber die Pigmente der Cho und der Haare von Sieber, |
| Thierische Melanine: Phymatorhusin und Hippomelanin. | 1885. Ueber die Farbstoffe der me schen Sarkome von Berde Nencki, **1**, 806. |
| Darstellung der Hippomelaninsäure und Sepiasäure. | 1887. Weitere Beiträge zur Kenntni thierischen Melanine von N u. Sieber, **2**, 31. |
| | 1887. Entgegnung von Nencki, **2**, |
| | 1888. Erklärung von Nencki, **2**, 87 |
| | 1890. Bemerkungen über die thier Melanine und das Hämosideri Abel, **2**, 156. |
| Uroroseïn. | 1882. Ueber das Uroroseïn, einen Harnfarbstoff von Nencki u. Si **1**, 680. |
| | 1896. Ueber die Frage der Oxydatic Urobilins in Uroroseïn von Sala **2**, 587. |

## 4. Untersuchungen über den Magensaft.

| | |
|---|---|
| Ueber den Magensaft und das körnige Pepsin. | 1893. Ueber den Magensaft und das I bei Hunden von Schumow-S nowski, **2**, 379. |
| Ersatz des Na Cl durch das Na Br. Topographische Vertheilung des Chlors im thierischen Organismus. | 1894. Studien über das Chlor un Halogene im Thierkörper von N u. Schumow-Simanowski, |

1895. Ueber den Chlorgehalt des Blutes und der Organe bei den pathologischen Processen im Thierorganismus von Wyrzikowsky, **2**, 550.

1895. Ueber das Vorkommen von Sulfocyansäure im Magensafte von Nencki, **2**, 515.

1895. Eine Bemerkung, die Ausscheidung dem Organismus fremder Stoffe in den Magen betreffend von Nencki, **2**, 547.

1901. Beiträge zur Kenntniss des Magensaftes u. s. w. von Nencki u. Sieber, **2**, 824.

## 5. Verschiedene Untersuchungen aus dem Gebiete der physiologischen Chemie.

**Eiweissstoffe.**

1873. Zur Kenntniss der amyloiden Substanz von Modrzejewski, **1**, 62.

1873. Ueber den Einfluss der Muskelbewegung auf die Eiweisszersetzung im menschlichen Organismus von Schenk, **1**, 64.

1880. Ueber die angebliche Umwandlung des Eiweisses im Fett beim Reifen des Roquefortkäse von Sieber, **1**, 538.

1892. Ueber den Einfluss einiger organischer Substanzen auf die Eiweissgerinnung von Orzechowski, **2**, 269.

1894. Bemerkungen über die sogenannte Asche der Eiweisskörper von Nencki, **2**, 488.

1901. Ueber die Spaltungsproducte des Pferdeglobins von Lawrow, **2**, 859.

b) Blut.

1887. Ueber das Vorkommen der Milchsäure im Blute und ihre Entstehung im Organismus von Berlinerblau, **2**, 67.

1899. Zur Frage „Ueber das krystallinische Fibrin“ von Dzierzgowski, **2**, 711.

c) Milch.

1875. Ueber den Stickstoff- und Eiweissgehalt der Frauen- und Kuhmilch von Nencki, **1**, 121.

1900. Ueber die Umikoff'sche Reaction der Frauenmilch von Sieber, **2**, 786.

d) Pentosurie.

1896. Ueber Pentosurie von Nencki, **2**, 581.

1896. Ueber den Zucker der schleimigen Substanzen des thierischen Organismus von Jacewitch, **2**, 583.

| | |
|---|---|
| e) Glycogenbildende Function der Leber. | 1872. Beiträge zur Glycogenbildung in der Leber von Schöpfer, **1**, 48. |
| | 1900. Ueber das Verhalten einiger künstlicher Hexosen im Thierkörper von Münch, **2**, 788. |
| f) Xanthinkörper der Nebennieren. | 1899. Die Xanthinkörper der Nebennieren von Okerblom, **2**, 679. |
| g) Harn. | 1882. Ueber das Vorkommen von Milchsäure im Harn bei Krankheiten und die Oxydationen in den Geweben der Leukämischen von Nencki u. Sieber, **1**, 670. |
| | 1889. Ueber das Vorkommen von Milchsäure im menschlichen Harn von Heuss, **2**, 137. |
| | 1883. Ueber den diagnostischen Werth der Urobilinurie für die Gynäkologie von Dick, **1**, 724. |
| | 1885. Ueber den Ursprung der Glycerinphosphorsäure des Harns von Malischeff, **1**, 839. |
| | 1886. Ueber die Bestandtheile des Harnes bei Chylurie von Lachowicz, **2**, 28. |
| h) Koth. | 1892. Ueber die Asche des normalen Kothes. Beitrag zur Physiologie des Darmtractus von Grundzach, **2**, 268. |

# III. Untersuchungen über Bacterien- und Enzymwirkung.

## 1. Zersetzung des Eiweisses bei der Fäulniss.

### a) Ueber das Indol.

| | |
|---|---|
| Entstehung des Indicans im Organismus. | 1874. Ueber die Harnfarbstoffe aus der Indigogruppe und über die Pankreasverdauung von Nencki, **1**, 92. |
| | 1874. Des matières colorantes du groupe indigo considérées au point de vue physiologique p. Masson, **1**, 98. |
| | 1874. Ueber Harnfarbstoffe aus der Indigogruppe von Niggeler, **1**, 105. |
| Bildung des Indols bei Verdauung des Eiweisses. | 1875. Ueber die Bildung des Indols aus dem Eiweiss von Nencki, **1**, 113. |
| | 1875. Ueber die Bildung des Indols aus dem Eiweiss bei der Pankreasverdauung von Frankiewicz, **1**, 144. |
| Chemische Untersuchungen über das Indol, salpetersaures Nitrosoindol. Synthese des Indigblau. | 1875. Ueber das Indol von Nencki, **1**, 115. |
| | 1875. Ueber die Dampfdichte des Indols von Nencki, **1**, 123. |
| | 1876. Zur Geschichte des Indols und der Fäulnissprocesse im thierischen Organismus von Nencki, **1**, 173. |

b) Allgemeine Untersuchungen über die Spaltungsproducte der verschiedenen Eiweissarten bei der Fäulniss.

1876. Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas von Nencki, **1**, 181.

1876. Recherches sur la putrefaction de l'albumine et sur la transformation en graisse p. Sécretan, **1**, 216.

1880. Ueber die angebliche Umwandlung des Eiweisses im Fett beim Reifen des Roquefortkäse von Sieber, **1**, 538.

1877. Zur Kenntniss der Fäulnissprocesse von Nencki, **1**, 244.

1877. Untersuchungen über die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses durch die geformten Pankreasfermente bei Luftausschluss v. Jeanneret, **1**, 246.

1877. Zur Kenntniss der Leucine von Nencki, **1**, 270.

1878. Ueber die Fäulniss des Elastins und Mucins von Waelchli, **1**, 354.

1878. Ueber die Zersetzung des Blutes durch Bacillus subtilis von Kaufmann, **1**, 359.

1881. Zur Kenntniss der Fäulnissproducte des Gehirns von Stöckly, **1**, 596.

1882. Zur Geschichte der basischen Fäulnissproducte von Nencki, **1**, 674.

1880. Ueber die Ursache der sauren Reaction der thierischen Gewebe nach dem Tode von Ekunina, **1**, 555.

1892. Vorkommen des Pentamethylendiamins in Pankreasinfusen von Werigo, **2**, 267.

Zersetzungsproducte des Eiweisses beim Schmelzen mit Kali.

1878. Ueber die Zersetzung des Eiweisses durch schmelzendes Kali von Nencki, **1**, 370.

Zersetzung des Wassers bei Fäulnissprocessen.

1878. Ueber den chemischen Mechanismus der Fäulniss von Nencki, **1**, 376.

1883. Ueber die Bildung von Wasserstoff bei der Fäulniss und die Activirung des Sauerstoffs von Złotnicki, **1**, 722.

c) Die Spaltungsproducte des Eiweisses bei der anaërobiotischen Gährung.

1877. Untersuchungen über die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses u. s. w. von Jeanneret, **1**, 246.

Präformirte aromatische Gruppen in dem Eiweissmolekül: Tyrosin, Phenylamidopropionsäure, Skatolamidoessigsäure.

1889. Untersuchungen über die Zersetzung des Eiweisses durch anaërobe Spaltpilze von Nencki, **2**, 101.

1889. Ueber die Zersetzung des Lein durch anaërobe Spaltpilze von Sel trenny, 2, 118.
1890. Ueber die bei der anaërobiotische Gährung auftretenden Gase vo Bovet, 2, 162.
1891. Ueber Spaltungsproducte der Eiweis stoffe von Nencki, 2, 171.

d) Specielle Untersuchungen über einige Spaltungsproducte des Eiweisses.

Skatol.

1877. Ueber die flüchtigen Bestandthei der menschlichen Excremente vo Brieger, 1, 239.
1878. Ueber die flüchtigen Bestandthei der menschlichen Excremente vo Brieger, 1, 388.
1878. Vortheilhafte Darstellung des Skato von Nencki, 1, 433.
1879. Die empirische Formel des Skato von Nencki, 1, 492.
1880. Zur Kenntniss der Skatolbildung vo Nencki, 1, 537.

Phenol.

1878. Zur Kenntniss der Phenolbildu bei der Fäulniss der Eiweisskörp von Odermatt, 1, 404.
1878. Ueber Phenolausscheidung bei Kran heiten und nach Tyrosingebrauch vo Brieger, 1, 418.
1878. Erwiderung in Betreff der pathol gischen Phenolausscheidung vo Nencki, 1, 430.

Methylmercaptan.

1889. Zur Kenntniss der bei der Eiweis gährung auftretenden Gase vo Nencki u. Sieber, 2, 113.
1889. Das Methylmercaptan als Bestan theil der menschlichen Darmga von L. Nencki, 2, 117.
1890. Ueber das Vorkommen von Methy mercaptan im menschlichen Harn na Spargelgenuss von Nencki, 2, 1[illegible]
1892. Sur la formation de méthylmercapt par fusion de l'albumine avec potasse caustique par Sieber Schoubenko, 2, 330.
1893. Sur l'action physiologique du méthy mercaptan p. Rekowski, 2, 392.

Proteïnochromogen.

1895. Zur Kenntniss der pankreatisch Verdauungsproducte des Eiweiss von Nencki, 2, 509.
1898. Ueber das Chloroproteïnchrom vo Beitler, 2, 639.

e) **Zur Gruppe der Untersuchungen über die Gährung beziehen sich noch folgende Arbeiten.**

1879. Ueber die Gährung des schleimsauren Ammoniaks von Ciszkiewicz, **1**, 495.
1889. Ueber die Bildung der Paramilchsäure durch Gährung des Zuckers von Nencki u. Sieber, **2**, 131.

## 2. Untersuchungen über die Enzyme.

Enzyme.

1890. Die Enzyme in der Therapie von Nencki u. Sahli, **2**, 143.
1891. Ueber die labilen Eiweissstoffe von Nencki, **2**, 174.
1900. Ueber die Aufgaben der biologischen Chemie von Nencki, **2**, 712 u. 719.
1901. Beiträge zur Kenntniss des Magensaftes und der chemischen Zusammensetzung der Enzyme von Nencki u. Sieber, **2**, 824.

Oxydasen.

1901. Ueber die Entgiftung der Toxine durch die Superoxyde, sowie thierische und pflanzliche Oxydasen von Sieber, **2**, 843.

Hämolysine.

1901. Ueber hämolytisches Serum durch Blutfütterung von Metalnikow, **2**, 861.
1901. Zur Kenntniss des Hämolysins des Bacillus pyocyaneus von Weingerow, **2**, 861.

Agglutinine.

1901. Die Rolle der Immunkörper und Agglutinine bei der passiven Immunität von Tschistowitsch, **2**, 862.

Pflanzliche Toxine.

1891. Beiträge zur Kenntniss des giftigen Princips der Jequiritysamen von Glinka, **2**, 223.
1901. Beitrag zum Studium der Einwirkung der Verdauungsfermente auf das Abrin und über das Schicksal des letzteren im Magendarmcanal von Dzierzgowski u. Sieber, **2**, 857.

## 3. Untersuchungen über die Verdauungssäfte.

1898. Die Entgiftung der Toxine durch die Verdauungssäfte von Nencki, Sieber u. Schumow-Simanowski, **2**, 619.
1898. Zur Frage über die toxische Wirkung der ungeformten Fermente von Tschepurkowski, **2**, 633.

1901. Ueber die Ammoniakabspaltung bei der Einwirkung von Trypsin und Pepsin auf Eiweisskörper von Dzierzgowski u. Salaskin, **2**, 858.
1901. Ueber die Bildung des Leucinimids bei der peptischen und tryptischen Verdauung des Oxyhämoglobins resp. des Globins von Salaskin, **2**, 858.
1901. Zur Kenntniss des Chemismus der peptischen und tryptischen Verdauung der Eiweisskörper von Lawrow, **2**, 860.

### 4. Untersuchungen über die Verdauungsprocesse im menschlichen Darmcanal.

a) Dünndarm.

1891. Untersuchungen über die chemischen Vorgänge im menschlichen Dünndarm von Macfadyen, Nencki u. Sieber, **2**, 183.
1891. Beitrag zur Kenntniss der Mikroben des Dünndarms von Bovet, **2**, 215.
1892. Chemische Processe in den Eingeweiden des Menschen von Jakowski, **2**, 264.

b) Dickdarm.

1892. Ueber die Gährungen im menschlichen Dickdarm und die sie hervorrufenden Mikroben von Zumft, **2**, 332.

c) Die Rolle der Bacterien in den Verdauungsprocessen.

1885. Bemerkungen zu einer Bemerkung Pasteur's von Nencki, **1**, 836.
1896. Verdauung ohne Mitwirkung von Mikroorganismen von Nencki, **2**, 578.

## IV. Bacteriologische Untersuchungen.

### 1. Mikroskopische Beobachtungen über Lebens- und Entwickelungsformen der Mikroorganismen.

1876. Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas von Nencki, **1**, 181.
1877. Untersuchungen über die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses durch die geformten Pankreasfermente bei Luftausschluss v. Jeanneret, **1**, 246.
1878. Ueber die Zersetzung des Blutes durch Bacillus subtilis von Kaufmann, **1**, 359.

Beobachtung der Vermehrung der Bacterien durch Spaltung.

1880. Ueber das Verhalten der Milzbrandbacillen in Gasen von Szpilman, **1**, 523.

1879. Giebt es Bacterien oder deren Keime in den Organen gesunder lebender Thiere? von Nencki u. Giacosa, **1**, 471.

## 2. Die Lehre über die Anaërobiose.

1879. Ueber die Lebensfähigkeit der Spaltpilze bei fehlendem Sauerstoff von Nencki, **1**, 436.

1884. Die Anaërobiosefrage von Lachowicz u. Nencki, **1**, 734.

1884. Bemerkungen zu der vorstehenden Abhandlung von Nencki, **1**, 740.

1886. Die Anaërobiose und die Gährungen von Nencki, **2**, 1.

## 3. Anwendung der chemischen Methoden zur Untersuchung der Mikroorganismen.

1879. Ueber die chemische Zusammensetzung der Fäulnissbacterien von Nencki u. Schaffer, **1**, 477.

1881. Zur Kenntniss des Mykoproteïns von Schaffer, **1**, 578.

1881. Beiträge zur Kenntniss der chemischen Zusammensetzung der Schimmelpilze von Sieber, **1**, 580.

1884. Ueber das Eiweiss der Milzbrandbacillen von Nencki, **1**, 785.

1886. Einige Beobachtungen über die Milzbrandbacillen von Dyrmont, **2**, 9.

1888. Bacteriologisch - chemische Untersuchungen einiger Spaltpilzarten von Kunz, **2**, 98.

1888. Ueber die chemische Zusammensetzung der Bacillen des Erythema nodosum von Bovet, **2**, 99.

1889. Ueber die Zersetzung des Eiweisses durch die Bacillen des malignen Oedems von Kerry, **2**, 120.

1889. Bacteriologisch - chemische Untersuchungen der Tuberkelbacillen von Hammerschlag, **2**, 121.

1891. Ueber die chemische Natur des wirksamen Stoffes im Koch'schen Tuberculin von Hahn, **2**, 225.

1891. Die isomeren Milchsäuren als Erkennungsmittel einzelner Spaltpilzarten von Nencki, **2**, 180.

1891. Ueber die Zersetzung des Traubenzuckers durch Erysipelcoccen von Salberg, **2**, 226.
1892. Beiträge zur Lehre von den Bacterien des blauen Eiters (Bacillus pyocyaneus) von Jakowski, **2**, 266.
1892. Beiträge zu der Biologie der Typhusbacillen von Blachstein, **2**, 335.
1894. Hämoglobin und seine Derivate als Nährboden für pathogene Bacterien von Filipowsky, **2**, 498.

## 4. Die Lehre über die Mischinfection.

1892. Ueber Mischculturen von Nencki, **2**, 339.
1892. Ueber Mischculturen von Streptococcen und den Diphtheriebacillen von Schreider, **2**, 341.
1895. Zur Lehre von der Virulenz der Cholerabacillen in Mischculturen von Maschewski, **2**, 560.

## 5. Specielle Untersuchungen über einige Mikrobenarten und infectiöse Krankheiten.

a) Bac. Guillebeau a und c. Strept. mastitidis sporadicae.

1890. Chemisch - bacteriologische Untersuchungen eines Euterentzündung und Käseblähung bewirkenden Bacillus von Macfadyen, **2**, 160.
1891. Ueber die Stoffwechselproducte zweier Euterentzündung veranlassender Mikroben: des Bacillus Guillebeau a und des Streptococcus mastitidis sporadicae von Nencki, **2**, 215.
1892. Recherches chimiques sur les microbes produisant l'inflammation des glandes mannaires des vaches et des chèvres laitières p. Nencki **2**, 273.

b) Streptococcen.

1892. Untersuchungen über die pathogenen Streptococcen von Sieber, **2**, 336.
1896. Das Antistreptococcen- und Antistaphylococcenserum von Sieber, **2**, 584.

c) Bac. piscicidus agilis.

1894. Ein Beitrag zur Lehre von dem Fischgift. Bacillus piscicidus agilis, ein für Fische pathogener Mikrobe von Sieber, **2**, 496.
1898. Entgegnung von Sieber, **2**, 651.

d) Cholera.

1892. Zur Frage über Choleraepidemie von Nencki, **2**, 343.
1892. Ueber die Mikroorganismen in den Organen Choleratodter von Rekowski, **2**, 348.

1893. Beiträge zur Aetiologie der Cholera von Blachstein u. Zumft, **2**, 442.

1893. Note au sujet du mémoire de MM. Blachstein et Zumft p. Nencki, **2**, 443.

1893. Vergleichende bacteriologisch-chemische Studien über die Beziehung des Bacillus der Cholera Massauah zum Vibrio Metschnikovi und zum Koch'schen Kommabacillus von Rontaler, **2**, 445.

1894. Note sur l'étiologie du choléra p. Nencki, **2**, 499.

1895. Zur Lehre von der Virulenz der Cholerabacillen in Mischculturen von Maschewski, **2**, 560.

**Diphtherie.**

1892. Untersuchungen über die Umwandlung von Nährstoffen durch die Diphtheriebacillen und über die chemische Zusammensetzung dieser Mikroben von Dzierzgowski u. Rekowski, **2**, 334.

1894. Ueber die Milch in ihrer Beziehung zur Aetiologie der Diphtherie von Wladimirow, **2**, 491.

1894. Ueber das Diphtherie-Heilserum von Nencki, **2**, 501.

1895. Ueber die Eigenschaften des Antidiphtherieserums Behring's von Gorjansky, **2**, 558.

1895. Zur Herstellung des Diphtherieheilserums von Dzierzgowski, **2**, 559.

1895. Ueber die Ursachen der Trübung des Diphtherieheilserums v. Dzierzgowski, **2**, 559.

1896. Ueber den Gehalt an Antitoxin in den Körperflüssigkeiten und den einzelnen Organen der gegen Diphtherie immunisirten Pferde von Dzierzgowski, **2**, 585.

1896. Beiträge zur Herstellung der Heilsera von Dzierzgowski, **2**, 586.

1896. Ueber das Diphtherietoxin und Antitoxin von Nikanorow, **2**, 586.

1897. Zur Frage: „Ueber das Verhalten des Diphtherieheilserums bei der Filtration durch das Chamberland'sche Filter" von Dzierzgowski, **2**, 612.

1897. Ueber die Bestimmung der Kraft des antidiphtheritischen Heilserums von Dzierzgowski, **2**, 613.

1897. Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten einiger Organe zu den diphtheritischen Toxinen von Dzierzgowski u. Onufrowicz, **2**, 613.

1897. Ueber die Gewinnung von Diphtherieheilserum von hohem Antitoxingehalt von Nikanorow, **2**, 614.

1898. Zur Frage über die Beziehungen zwischen dem antidiphtherischen Heilserum und dem Diphtherietoxin von Dzierzgowski, **2**, 649.

1898. Ueber das Schicksal des Diphtherietoxins im Thierkörper von Dzierzgowski, **2**, 650.

1899. Die Beziehungen der Verdauungsfermente zum Antidiphtherieserum und das Schicksal des letzteren im Magendarmcanal v. Dzierzgowski, **2**, 710.

1900. Ein Beitrag zur Frage der Vererbung der künstlichen Immunität von Dzierzgowski, **2**, 789.

1901. Ein Beitrag zur Frage von der Vererbung der künstlichen Immunität gegen Diphtherie von Dzierzgowski, **2**, 864.

f) Rinderpest.

Aetiologie der Rinderpest.

1897. Ueber die Rinderpest von Nencki, Sieber u. Wyżnikiewicz, **2**, 602.

1898. Untersuchungen über die Rinderpest von Nencki, Sieber u. Wyżnikiewicz, **2**, 640.

Gewinnung des Serums gegen die Rinderpest und Immunisation mit Serum.

1899. Die Immunisation gegen die Rinderpest nach den im Institut für experimentelle Medicin in St. Petersburg und auf der Station „Iknewi" im Gouvernement Tiflis gesammelten Erfahrungen von Nencki, Sieber u. Wyżnikiewicz, **2**, 683.

1901. De l'immunisation contre la peste bovine dans la région Transbaïcalienne pendant les années 1899, 1900 et 1901 p. Wyżnikiewicz, **2**, 865.

Zu den bacteriologischen Arbeiten gehören noch folgende:

1892. Ein Apparat, um Flüssigkeiten bei niederer Temperatur keimfrei abzudampfen von Dzierzgowski und Rekowski, **2**, 333.

1893. Zur Aetiologie der Cystitis von Wreden, **2**, 448.

1895. Ueber den Einfluss des constanten elektrischen Stromes auf Tetanotoxine von Zajączkowski, **2**, 556.

## 6) Untersuchungen über die Antisepsis und Desinfection.

1879. Ueber die antiseptische Wirkung der Säuren von Sieber, **1**, 452.

1879. Ueber die antiseptischen Eigenschaften der Pyrogallussäure von Bovet, **1**, 460.

1882. Beiträge zur Lehre von der Antisepsis von Boillat, **1**, 642.

1883. Ueber die antiseptische Wirkung des Salicylresorcinketons von Repond, **1**, 721.

1889. Ueber die antiseptische Wirkung der isomeren salicylsauren Kresole, des salicylsulfonsauren Natriums und des $\alpha$-oxynaphtolsulfonsauren Natriums, sowie das Verhalten der beiden letzteren Körper im Organismus von Zimmerli, **2**, 142.

1890. Ueber die Antisepsis der Baumaterialien von Bovet, **2**, 162.

1893. Ueber die desinficirende Wirkung der drei isomeren Chlorphenole, ihrer Salicylsäureester und ihr Verhalten im Organismus von Karpow, **2**, 440.

1894. Die Desinfection des Sputums der Phthisiker und der Culturen der Tuberkelbacillen mit den alkalischen Theerlösungen und mit Holzessig von Gorjansky, **2**, 494.

1894. Vergleichende Untersuchung der desinficirenden und antiseptischen Wirkung des freien und des an Natron gebundenen Phenols und seiner Homologen von Erlenwein, **2**, 494.

1895. Das p-Chlorphenol als locales Heilmittel für Kehlkopftuberculose und als Desinficiens für Tuberkelbacillen und tuberculösen Auswurf v. Spengler, **2**, 557.

Theer.

1893. Ueber die chemische Zusammensetzung des russischen Nadelholztheers und seine desinficirenden Eigenschaften von Nencki u. Sieber, **2**, 398.

1894. Zur Kenntniss des Espentheers von Adolphi, **2**, 492.

1896. Wachholdertheer vom chemischen und bacteriologischen Standpunkte aus betrachtet von Schulz, **2**, 588.

## 7. Untersuchungen über die Hygiene.

1879. W jaki sposób można się od zarazy uchronić p. Nenckiego, **1**, 501.
1882. Ueber die Zulässigkeit gegypster Weine von Nencki, **1**, 631.
1893. Bemerkungen über die Berkefeld'schen Hausfilter von Dzierzgowski, **2**, 442.
1897. Zur Frage über den Einfluss von Steinkohle auf die Zusammensetzung der Luft in geschlossenen Räumen von Drżniewicz, **2**, 618.

## Varia.

1875. Blut von Nencki, **1**, 125.
1877. Eiweisskörper von Nencki, **1**, 294.
1878. Bemerkung zu der Notiz des Herrn Kühne: „Zur Geschichte der feuchten Gaskammern" von Nencki, **1**, 401.
1884. Die Alkoholfrage von Nencki, **1**, 763.
1890. Ein eidgenössisches Hygiene-Institut oder Subvention der cantonalen Anstalten von Nencki, **2**, 163.
1892. Ueber die Nothwendigkeit einer Reform des pharmaceutischen Unterrichts von Nencki, **2**, 349.

# 1869.

## Die Vorstufen des Harnstoffs im Organismus

von

**O. Schultzen** und **M. Nencki.**

Diese Arbeit ist in zwei Auflagen erschienen: zuerst in den Berichten der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. II, S. 566 als vorläufige Mittheilung aus dem chemischen Laboratorium der Anatomie zu Berlin, dann im Jahre 1872 in der Zeitschr. f. Biologie, **8**, 124, in genauerer und detaillirterer Form, obwohl wenige neue experimentelle Data hinzugekommen waren. Wir lassen die Arbeit in der letzten Redaction abdrucken.

H.

Die wichtigsten Thatsachen, welche die Lehre stützen, deren Begründung wir in dieser Abhandlung versuchen wollen, haben wir theilweise bereits im Jahre 1869 in den Berichten der deutschen chemischen Gesellschaft in Berlin, Heft 17, S. 566 veröffentlicht. Weitere Versuche wurden durch den bald darauf ausbrechenden Krieg und die dadurch an uns herantretenden anderweitigen Pflichten unterbrochen, und die kürzlich erfolgte Uebersiedelung des Einen von uns gestattet uns leider nicht, gemeinsam die begonnene Arbeit weiter fortzuführen. Indessen ist durch unsere Untersuchungen eine Seite der Frage und zwar die principielle, vollkommen zum Abschluss gebracht, so dass wir nicht Anstand nehmen, damit in extenso an die Oeffentlichkeit zu treten.

Inwiefern die vorliegenden Thatsachen wesentliche Wandlungen in unseren Anschauungen über die Oekonomie des thierischen Haushalts, besonders in Betreff des Umsatzes der Eiweisskörper und Leimkörper bedingen, werden wir in der Schlussbetrachtung, welche wir der Mittheilung der Experimente anfügen, auseinandersetzen.

Die Methode der Harnstoffbestimmung nach **Bunsen**, deren Anwendung auf

dem Gebiete der physiologischen Chemie wenig gebräuchlich war, die aber für derartige Arbeiten absolut unentbehrlich ist, haben wir mit den kleinen Bequemlichkeiten und Erleichterungen, welche die praktische Anwendung uns ergab, ausführlich beschrieben. Auch schien es gerathen, der leichteren Controle wegen, in ähnlicher Weise, wie es bei der Veröffentlichung der Elementaranalysen üblich ist, die direct durch Wägung gefundenen Werthe für die Bunsen'sche Gleichung anzuführen.

Es ist lange bekannt, dass weitaus der grösste Theil des Stickstoffs, welcher dem normalen Organismus durch die Nahrung zugeführt wird, denselben in der Form von Harnstoff verlässt. Die Zwischenstufen jedoch, welche zwischen den complicirt zusammengesetzten Eiweisskörpern und dem relativ einfachen Harnstoff sich nothwendigerweise im Körper, wenn auch nur in kleiner Menge auf einmal, bilden mussten, kannte man nicht. Im Allgemeinen war wohl die geläufigste Vorstellung die, dass der Atomencomplex des Harnstoffs im Eiweiss enthalten sei und daraus bei der allmählichen Oxydation direct resultire. Für diese Anschauung schien zu sprechen, dass manche Thierclassen, wie z. B. Schlangen und Vögel, durch den Urin reichliche Mengen eines Körpers entleeren, aus dem sich leicht der Atomcomplex des Harnstoffs abspalten lässt, nämlich der Harnsäure. Diese galt denn auch vielen Physiologen und Chemikern als eine der Vorstufen des Harnstoffs im Thierleibe. Daher wohl auch die vielfachen Versuche, durch directe Oxydation der Eiweisskörper Harnstoff zu erhalten, Versuche, die allerdings stets negativ ausgefallen sind [1]).

Bei den zahlreichen Arbeiten über die Eiweisskörper, welche von Liebig's Schülern angestellt wurden, waren die Resultate trotz wechselnder Bedingungen stets dieselben.

Es wurden bei Einwirkung von Säuren und Alkalien im Wesentlichen Ammoniak und Amidosäuren der fetten und aromatischen Reihe (Glycocoll, Leucin, Tyrosin), durch Oxydationsmittel hauptsächlich Ammoniak, Benzoësäure, Benzaldehyd und Aldehyde der Fettsäuren erhalten. Liebig nimmt im letzteren Falle an, dass durch die concentrirte Säure zunächst Spaltung im obigen Sinne und eine Oxydation der Spaltungsproducte stattgefunden habe. Ausserdem haben in neuerer Zeit Ritthausen und Kreusler Asparaginsäure und Glutaminsäure unter den Zersetzungsproducten der Eiweisskörper aufgefunden. Auch unter Einwirkung eines der thierischen Fermente, des Pankreassaftes, zerfallen die Eiweisskörper, wie Kühne [2]) gefunden hat, schon bei Körpertemperatur und in sehr kurzer Zeit in der oben angedeuteten Weise.

Es ist auffallend, dass bisher keine eingehenden Untersuchungen über das Verhalten dieser Spaltungsproducte im Thierkörper angestellt worden sind, ja dass sogar Niemand es ausgesprochen hat, diese Substanzen seien möglicherweise die natürlichen Zwischenglieder zwischen Eiweiss und Harnstoff. Dies hat vielleicht darin seinen Grund, dass es vom chemischen Standpunkte aus Schwierigkeiten macht, nähere Beziehungen zwischen Harnstoff und diesen Körpern zu ermitteln.

Es liegen eine Reihe von Thatsachen vor, welche nur so gedeutet werden

[1]) Die wiederholten positiven Angaben sind längst definitiv widerlegt, indem als Fehlerquelle Verwechselung des salpetersauren Baryts mit salpetersaurem Harnstoff nachgewiesen ist.

[2]) Virchow's Archiv, **39**, 130, 1867.

können, dass im lebenden Organismus unter normalen Verhältnissen Leucin, Tyrosin und Glycocoll auftreten. So findet man in Transsudaten[1]) aus dem Blute, z. B. bei Brust- oder Bauchwassersucht, wenig Leucin und Tyrosin neben Harnstoff, es ist demnach, da chemische Umsetzungen in solchen Flüssigkeiten nicht wahrscheinlich sind, anzunehmen, dass diese Körper vorher im Blute existirten.

So findet sich im Eiter, wo ein reichlicher Zerfall von Albuminaten bei Ausschluss des die Oxydation vermittelnden Hämoglobins stattfindet, sehr viel Leucin und Tyrosin, aber auffallenderweise keine Spur von Harnstoff [2]).

Man findet ferner bei gewissen Krankheiten, deren Wesen in einer fast vollkommenen Aufhebung der Oxydationskraft des Organismus beruht, wie bei Phosphorvergiftung und bei acuter Leberatrophie, im Harn ausserordentlich reichliche Quantitäten von Leucin und Tyrosin; unter solchen Verhältnissen fehlt Harnstoff beinahe oder ganz vollständig, während die leicht oxydirbare, in der Regel der Verbrennung anheimfallende Fleischmilchsäure in bedeutender Quantität erscheint[3]).

Ferner gelingt es durch Darreichung von Benzoësäure oder anderen aromatischen Säuren, sehr erhebliche Quantitäten von Glycocoll unverändert auszuführen; dieses muss also doch jedenfalls als solches vorher im Organismus existirt haben.

Alle diese Thatsachen schienen uns darauf hinzudeuten, dass wohl grossentheils diese Amidosäuren der Fettreihe, vielleicht auch das Tyrosin, die bisher unbekannten Uebergangsglieder zwischen Eiweiss und Harnstoff sein möchten, und dass nur die rasche Umwandlung derselben in Harnstoff sie der directen Beobachtung bisher entzogen habe.

Wie leicht in organischen Flüssigkeiten kleine Mengen solcher Körper übersehen werden, geht daraus hervor, dass bis vor wenig Jahren die Existenz des Harnstoffs im Blute geleugnet wurde.

Zur Entscheidung der Frage war vor Allem nöthig, den Beweis zu liefern, dass die genannten Substanzen, wenn sie an Thiere gefüttert werden, eine Vermehrung des ausgeschiedenen Harnstoffs veranlassen, genau so gross, dass der Stickstoff des Plus an Harnstoff dem Stickstoff der zugeführten Substanzen entspricht.

Wir lassen unsere Versuche, deren Resultate in der angedeuteten Weise positiv waren, hier folgen. Durch einen Zufall, wenn man es so nennen will, wurde bei ihnen noch eine andere Thatsache gefunden, die für die Beurtheilung der chemischen Vorgänge im Organismus von der grössten Bedeutung ist, die Unoxydirbarkeit des Acetamids[4]).

---

[1]) Neukomm, Ueber das Vorkommen von Leucin und Tyrosin und anderen Umsatzstoffen im menschlichen Körper bei Krankheiten. Inaug.-Diss. Zürich 1859; Wiener Med. Wochenschrift 1854, Nr. 30 und Mittheilung der naturforschenden Gesellschaft in Zürich, 4, 80. — Naunyn, Ueber die Chemie der Transsudate und des Eiters. Reichert und Du Bois-Reymond's Archiv, 1865, Heft 2.

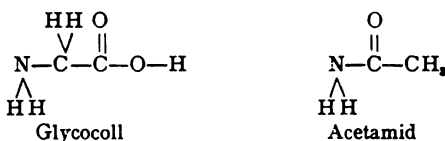
[2]) Naunyn, l. c.

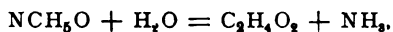
[3]) Schultzen, Zeitschr. für Chemie von Hübner und Beilstein, 1866. Schultzen und Riess, Charité-Annalen, 15.

[4]) Meissner fasst unsere folgenden Angaben, wie aus einem Referat im Bericht für Anatomie und Physiologie hervorgeht, lediglich als eine Bestätigung einer bereits von Küthe und Horsford gefundenen Thatsache auf. Wer sich die Mühe nehmen will, die

## I. Acetamid.

Da die natürlich im Körper vorkommenden Amidosäuren der Fettsäurereihe schwer in grösseren Mengen zu beschaffen sind, machten wir zunächst Versuche einem atomistisch ähnlich zusammengesetzten, wenn auch nicht gleich constitu Körper, dem Acetamid. Der Unterschied zwischen diesem Körper und dem Gl coll ist leicht ersichtlich, wenn man die nachstehenden Structurformeln mit eina vergleicht.

```
HH O                O
 V ||               ||
N—C—C—O—H         N—C—CH3
/\                /\
HH                HH
  Glycocoll        Acetamid
```

Im Glycocoll ist der Stickstoff des Ammoniaks mit dem unoxydirten Kohlen verbunden, während derselbe im Acetamid am oxydirten Kohlenstoff hängt, da d ja einfach durch Austritt von Wasser aus dem essigsauren Ammoniak entstar ist. Es tritt daher durch Einwirkung von Säuren und Alkalien das Ammoniak dem Acetamid leicht heraus unter Regeneration der Essigsäure durch Aufnahme Wasser,

$$NCH_5O + H_2O = C_2H_4O_2 + NH_3,$$

während der N im Glycocoll viel fester gebunden ist.

A priori schien uns in diesem Unterschiede der Constitution keine nothwen Differenz im Verhalten beim Durchgang durch den Organismus begründet zu : und wir begannen daher unseren Versuch mit Acetamid, welches durch Einleiten trockenem Ammoniak in Eisessig und darauf folgende Destillation des Gemis dargestellt war. Die Grundlagen, auf denen alle unsere Versuche sich aufbauen, das von Voit entdeckte und sicher begründete Gesetz vom Stickstoffgleichgew und die bekannte Erfahrung, dass man beim Thier durch gleichmässige Diät sehr constante tägliche Harnstoffausscheidung erzielen kann. Je geringer der St stoffgehalt der Nahrung, desto geringer die tägliche Menge des Harnstoffs. Bei uns Versuchen musste es darauf ankommen, recht schlagende Zahlen zu erhalten und Möglichkeit zufälliger Schwankungen auszuschliessen; wir wählten deshalb kl Versuchsthiere und richteten die Nahrung so spärlich ein, als es sich nur immer dem Gesundheitszustande der Thiere vertrug.

Wenn man einen Hund von 7 bis 8 kg etwa 5 bis 6 Tage lang mit 100 gewöhnlicher Stadtmilch, 100 ccm Wasser und 50 g Schwarzbrot füttert, so s die tägliche Harnstoffausscheidung auf 4 bis 6 g, je nach der Individualität Hundes, und kann auf dieser Höhe 10 bis 12 Tage fast constant erhalten wer

dort citirten Arbeiten durchzusehen, wird finden, dass darin auch nicht der Schatten ( Beweises für die ganz nebensächlich und beiläufig hingestellte Behauptung, dass G sich in Harnstoff verwandle, vorgebracht ist. Hauptsächlich kam es den Verfassern d an, zu erweisen, dass Glycocoll neben Harnstoff Zucker gebe. Jeder, der an eine ph logisch-chemische Arbeit den Anspruch der experimentellen Exactheit macht, wird Arbeit unbefriedigt aus der Hand legen, und Meissner ist im Uebrigen auch nicht zu haltend mit seinem Urtheil in diesem Sinne.

selten sinkt sie in dieser Zeit um mehr als 1 Gramm, und die Abnahme findet bei sorgfältigem Sammeln des Urins und vor Allem pünktlicher Fütterung ganz allmählich von Tag zu Tag statt, so dass in einzelnen Fällen die Tagesquanten um weniger als 0,2 Harnstoff schwanken.

Wenn man bei solcher Gleichmässigkeit der Ausscheidung von den obengenannten Amidosäuren oder dem Acetamid der Nahrung so viel zusetzt, dass deren Stickstoff einer Zunahme des Harnstoffs um mehr als das Doppelte der Tagesquantität entspricht, so müssen die Resultate einwandfrei sein, wenn die Harnstoffmenge entweder unverändert bleibt oder die entsprechende Zunahme zeigt; im ersteren Falle muss man folgern, dass die Substanz nicht in Harnstoff, im letzteren, dass sie vollständig darin verwandelt wird.

Die ersten Experimente gaben kein entscheidendes Resultat, weil die Liebig'sche Methode für derartige Versuche ganz ungeeignet ist, da auch die Amide und die Amidosäuren mit Quecksilber Verbindungen eingehen, welche im Verhältniss zum Stickstoff ebenso viel Quecksilber binden als der Harnstoff. Wir versuchten deshalb die bisher bei physiologisch-chemischen Arbeiten wohl kaum in grösserer Ausdehnung angewandte Bunsen'sche Methode und fanden dieselbe für unsere Zwecke in ausgezeichneter Weise geeignet. Sie[1]) beruht bekanntlich auf der Zerlegung des Harnstoffs in kohlensaures Ammoniak und Wasser durch längeres Erhitzen mit ammoniakalischer Chlorbaryumlösung auf höhere Temperaturen. Versuche mit den Amiden und den Amidosäuren ergaben, dass diese selbst bei 300° in zugeschmolzener Röhre mit concentrirter ammoniakalischer Chlorbaryumlösung nicht eine Spur von Fällung geben, dass also ihre Gegenwart das Resultat der Harnstoffbestimmung nicht im Geringsten alterirt.

Der Versuch mit Acetamid gab ein ganz entscheidendes Resultat, indem gefunden wurde, dass es den Organismus vollkommen unverändert passirt und auch nicht die mindeste Zunahme des Harnstoffs veranlasst. Die nachfolgende Tabelle ergiebt die Harnstoffzahlen nebst den nöthigen anderen Daten[2]).

| Datum | 1. Harn in 24 Stund. | 2. Specif. Gew. | 3. $p$ nach Bunsen | 4. Harnstoff in 24 Std. | 5. Essigsäure | 6. N direct gefunden | 7. N Ueberschuss | Acetamid |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 10. 8. 1869 | 163 ccm | 1.0190 | 1.334 | 2.16 | — | — | — | 15.0 |
| 11. „ „ | 216 „ | 1.0150 | 1.459 | 3.15 | — | 2.32 | } 3.61 | 15.0 |
| 12. „ „ | 352 „ | 1.0101 | 0.773 | 2.72 | 9.8 | 2.90 | | — |
| 13. „ „ | 146 „ | 1.0113 | 1.150 | 1.67 | — | 1.02 | | — |
| 14. „ „ | 144 „ | 1.0190 | 1.020 | 2.66 | — | — | — | — |

[1]) Annalen der Chem. und Pharm. **65**, 375.

[2]) Der Harn wurde stets des Morgens früh und gegen Abend zur bestimmten Stunde gesammelt und die Morgenportion mit der vom Abend vorher vereinigt, um den ganzen Tag für die Verarbeitung desselben zu gewinnen. Die Fütterung fand einmal am Tage gleich nach der ersten Harnentleerung statt, so dass ihr Erfolg sich erst in dem am darauf folgenden Tage in Arbeit genommenen Harn geltend machte.

Wenn wir die Gesammtmenge des ausgeschiedenen Harnstoffs durch die Anz
der Tage dividiren, so kommt auf jeden Tag im Durchschnitt 2.47 Harnstoff. Di
Zahl kommt der am ersten und letzten Tage gefundenen Zahl sehr nahe; die d
unter dem Einfluss des Acetamids stehenden Tage zeigen eine kleine Unregelmäss
keit, indem am ersten Tage etwas mehr, am zweiten etwa so viel wie der Dur
schnitt, am dritten etwas weniger Harnstoff ausgeschieden wurde, während das Mi
auch dieser Tage gut übereinstimmt. Die Thatsache erklärt sich sofort, wenn n
die Harnquanten in Betracht zieht. Das Acetamid ist ein ausgezeichnetes Diuretic
und hat, wie wir ebenso schon bei früheren Versuchen beobachteten, eine beträc
liche Wasserausfuhr zu Wege gebracht, wodurch die Harnstoffausscheidung sich
der bekannten Weise unregelmässig gestaltete, indem Anfangs etwas mehr Harns
ausgeführt wurde, während sich später ein entsprechendes Deficit bemerkl
machte.

Aus diesem Versuch, zusammengehalten mit den anderen im Anhang mitgetheil
Versuchen, geht mit Evidenz hervor, dass das Acetamid kein Material für die Bildı
des Harnstoffs im Organismus abgiebt. Es war von Interesse, zu entscheiden,
ein durch Alkalien so leicht veränderlicher Körper vielleicht unverändert, oder et
als Ammoniak unter Verbrennung der gebildeten Essigsäure ausgeschieden wür

Der Harn reagirte sauer und gab nach Zusatz von Schwefelsäure an Aether ke
Spur von Essigsäure ab, konnte also keine freie oder an Salze gebundene Essigsä
enthalten.

Bei Destillation des Harns mit Schwefelsäure ging ein stark saures Destillat üb
Ein Theil davon wurde mit Natriumcarbonat neutralisirt, auf ein kleines Volum v
dunstet und mit Silbernitrat versetzt. Der sofort entstehende weisse Niederschl
wurde durch mehrmaliges Umkrystallisiren aus heissem Wasser in Gestalt v
schönen seidenglänzenden weissen Nadeln erhalten, deren Analyse zur Formel
essigsauren Silbers führte.

1. 0.2555 g Substanz gaben 0.2147 AgCl
2. 0.2641 g „ „ 0.2258 „
3. 0.2837 g „ „ 0.2422 „

| Berechnet | Gefunden I. | II. | III. |
|---|---|---|---|
| Ag = 64.67 | 63.9 | 64.38 | 64.22 |

Die Lösung des Natronsalzes gab mit Eisenchlorid eine rothbraune Lösu
welche beim Kochen basisch-essigsaures Eisen absetzte. Quecksilbersalze wurd
nicht reducirt.

Eine Titrirung des Harndestillats mit Natronlauge ergab für den Gesammth
am 12. = 9.8 g Essigsäure, welche 9.44 Acetamid entspricht.

Die hier gefundene Essigsäure kann ihrer Gewinnung nach natürlich nur v
im Harn enthaltenem Acetamid herrühren, das ja beim Erhitzen mit Säuren u
Alkalien leicht in Essigsäure und Ammoniak zerfällt.

Eine mit dem Harn angestellte Schneider-Seegen'sche Stickstoffbestimmu
ergab 2.9 N, wovon nur 1.26 durch den Harnstoff gedeckt sind; aus dem gefunde
Ueberschuss berechnet sich 6.8 Acetamid, was im Verhältniss zur Essigsäure et
zu wenig ist; wahrscheinlich rührt das Deficit an N daher, dass wir bei unseren er

Analysen, wie wir uns später überzeugt haben, nicht anhaltend und nicht stark genug erhitzt haben, so dass ein Theil des Ammoniaks im Rückstand blieb.

Aus den angegebenen Daten geht hervor, dass das Acetamid in grosser Menge, wahrscheinlich vollständig, durch den Harn unverändert ausgeschieden wird [1]). Bei der leichten Zersetzbarkeit des Acetamids in alkalischer Lösung, bei der grossen Fähigkeit des Organismus, durch seine Fermente den eingeführten Substanzen Wasser zuzuführen, ist dieser Befund gewiss auffallend. Ammoniakbestimmungen nach Schlösing's Methode ergaben nur geringe Mengen freien Ammoniak im Harn.

## II. Glycocoll.

Da der Acetamidversuch in Beziehung auf die Harnstoffbildung ein negatives Resultat ergeben hatte, kam es darauf an, zu versuchen, ob die Amidosäuren ein anderes Verhalten zeigten als die Säureamide, und wir wählten als Repräsentanten der ersteren Gruppe das Glycocoll.

Dieses war aus Hippursäure dargestellt, welche wir aus Kuhharn gewonnen hatten.

| I Datum | II Harnmenge in 24 Std. | III Specif. Gewicht | IV Harnstoff Proc. | V Harnstoff in 24 Std. | VI N a. d. Ůr. berechnet | VII N direct gef. | VIII Differenz | IX $NH_3$ in 24 Std. | X Fütterung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 24. | 360 | 1.0109 | 1.1 | 3.96 | — | — | — | 0.2034 | |
| 25. | 302 | 1.0103 | 1.248 | 3.768 | — | — | — | 0.2730 | 15.0 Glycocoll |
| 26. | 250 | 1.0168 | 2.875 | 7.187 | 3.33 | 3.42 | 0.11 | 0.1977 | 15.0 Glycocoll |
| 27. | 345 | 1.0148 | 2.745 | 9.47 | 4.32 | 4.22 | 0.12 | 0.3703 | |
| 28. | 265 | 1.0118 | 1.445 | 3.81 | 2.31 | 2.33 | 0.02 | 0.2435 | |
| 29. | 332 | 1.0093 | 1.13 | 3.78 | 1.85 | 1.76 | 0.09 | 0.2626 | |

Wenn wir in obiger Tabelle die Harnstoffzahlen von den vier Tagen, welche nicht unter Wirkung des Glycocolls stehen, zusammenzählen und die Summe durch 4 dividiren, so kommen im Durchschnitt auf jeden Tag 3.8 g Harnstoff; an den beiden der Fütterung entsprechenden Tagen wurden 16.66 Harnstoff ausgeschieden, also an diesen beiden Tagen ein Mehr von 9.0 Ůr., dessen Stickstoff nahezu dem des Glycocolls entspricht; die 30 g Glycocoll würden 11.97 Harnstoff entsprechen, der kleine Ausfall erklärt sich leicht daraus, dass das Glycocoll nicht absolut rein und trocken war.

Um sicher zu sein, dass keine erhebliche Menge Stickstoff in anderer Form wie als Harnstoff ausgeschieden war, wurden an den der Glycocollfütterung entsprechenden und den beiden folgenden Tagen directe N-Bestimmungen nach Schneider-Seegen vorgenommen; die Columne VIII ergiebt, wie wenig die aus dem Ůr. berechneten und die direct für den N berechneten Zahlen von einander differiren. Es ist hiermit der Beweis geliefert, dass das Glycocoll auf seinem Wege durch den Organismus in Harnstoff verwandelt wird.

Um zwei Körper der Reihe auf ihr Verhalten geprüft zu haben und um zu sehen,

[1]) Vergleiche am Schluss (Belege) die ersten Acetamidversuche.

ob die Anzahl der Kohlenstoffatome bei der gedachten Umwandlung ohne E
wurde ein weiterer Versuch mit Leucin angestellt, in welchem die Kohler
welche am Stickstoff hängt, um 4 C-Atome länger ist als beim Glycocoll.

$$\overset{H_2}{N}-\overset{H_2}{C}-\overset{O}{C}O-H = \text{Glycocoll.} \qquad \overset{H_2}{N}-\overset{H_2}{C}-\overset{H_2}{C}-\overset{H_2}{C}-\overset{H_2}{C}-\overset{H_2}{C}-\overset{O}{C}-O-H =$$

Das Resultat war das nämliche wie beim Glycocoll.

| I<br>Datum | II<br>Harnmenge<br>in 24 Std. | III<br>Specif.<br>Gewicht | IV<br>Harnstoff<br>Proc. | V<br>Harnstoff<br>in 24 Std. | VI<br>Ammoniak<br>in 24 Std. | I |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 4. 10. 69 | 324 | 1.0125 | 1.537 | 4.979 | 0.2387 | |
| 5. „ „ | 327 | 1.0107 | 1.543 | 5.045 | 0.2423 | 1( |
| 6. „ „ | 406 | 1.0142 | 1.641 | 6.66 | 0.2208 | 3( |
| 7. „ „ | 430 | 1.0174 | 2.116 | 9.098 | 0.4678 | |
| 8. „ „ | 320 | 1.0130 | 1.37 | 4.38 | 0.2611 | |
| 9. „ „ | 294 | 1.0133 | 1.339 | 3.936 | | |

Ein Blick auf Columne V dieser Tabelle ergiebt, dass an den beiden (
rung entsprechenden Tagen etwa 6 bis 7 g Harnstoff mehr ausgeschieden
dem Durchschnitt entspricht. Dieses Mehr an Stickstoff entspricht nicht
des zugeführten Leucins; das letztere war indessen nicht vollkommen rein
nicht trocken; da es aus Hornspänen dargestellt war, war es unmöglich, darar
färbende und hygroskopische Materien vollkommen zu entfernen.

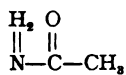
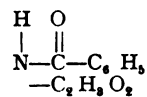
Die Uebereinstimmung ist demnach eine vollkommen genügende un
vorliegende Frage vollkommen beweisende; auch das Leucin geht auf sein
durch den Organismus in Harnstoff über.

Wir gehen wohl nicht zu weit, wenn wir aus diesen beiden Thatsa
Schluss ziehen, dass alle Amidosäuren der Fettreihe im Organismus in
verwandelt werden, während die Amide dieser Säuren den Körper ur
passiren. Solche Erfahrungen dürfte man jedoch nicht ohne Weiteres auc
aromatischen Amidosäuren anwenden. Ein Körper, dessen Constitution 1
nicht genau kennt, das Tyrosin, ist wahrscheinlich eine Amidosäure der aro
Reihe, und bei dem Interesse, welches diese Substanz für den Physiologen h
es besonders wichtig zu sein, ihr Verhalten genau zu kennen, namentlich
Verbleib ihres Stickstoffs Auskunft zu erhalten. Der in Bezug auf die
ausscheidung wie oben angestellte Versuch ergab Folgendes:

| Datum | Harnmenge<br>in 24 Std. | Specif.<br>Gewicht | Harnstoff<br>Proc. | Harnstoff<br>in 24 Std. | Fütt |
|---|---|---|---|---|---|
| 30. 3. 70. | 352 | 1.015 | 1.56 | 5.49 | |
| 31. „ „ | 353 | 1.013 | 1.60 | 5.64 | |
| 1. 4. „ | 324 | 1.016 | 1.67 | 5.41 | 20.0 T |
| 2. „ „ | 278 | 1.024 | 2.65 | 7.36 | 20.0 T |
| 3. „ „ | 370 | 1.020 | 1.81 | 6.69 | |
| 4. „ „ | 324 | 1.017 | 1.91 | 6.18 | |
| 5. „ „ | 320 | 1.015 | 1.62 | 5.184 | |

Auch hier sprechen die gefundenen Zahlen für eine Zunahme des Harnstoffs, jedoch sind sie keineswegs sicher beweisend. Der Harn vom 2. und 3. April enthielt je 1 bis 1,5 Tyrosin, das sich theils beim Stehen des Harns, theils beim weiteren Eindampfen desselben ausschied. Auch in den Fäces liess sich etwas Tyrosin nachweisen, wenngleich sich dasselbe nicht zur quantitativen Bestimmung hinlänglich genau isoliren liess. Das wahrscheinliche Schicksal des Tyrosins ist nach diesem Versuch wohl folgendes: Zum weitaus grössten Theile wird es vom Darm aus resorbirt, jedoch im Körper nur so langsam zerstört, dass ein Theil davon unverändert wieder ausgeschieden wird; von dem im Körper zersetzten Theil scheint der N in Form von Harnstoff ausgeschieden zu werden. Wir verhehlen uns nicht, dass diese Meinung noch nicht exact erwiesen ist, jedoch stimmt sie überein mit der Anschauung, welche sich aus der theoretischen Betrachtung über den Verbleib des in dem Eiweiss präformirten Tyrosins ergiebt.

Betrachtungen.

Die Resistenz des Acetamids im Organismus ist bei der leichten Zerstörbarkeit des einen Componenten, der Essigsäure, sehr auffallend; eine genau zutreffende Analogie hierfür haben wir jedoch bereits in der Hippursäure, wenngleich deren Resistenz bisher daraus erklärt wurde, dass der aromatische Bestand die ganze Gruppe schützt. Aus der Betrachtung der folgenden Structurformeln wird die Analogie sofort ersichtlich.

```
H₂ O            H O
|| ||           | ||
N—C—CH₃         N—C—C₆H₅
                 —C₂H₃O₂
Acetamid.       Hippursäure.
```

In beiden Körpern hängt die Säure durch die Carboxylgruppe mit dem N zusammen, so dass man die Namen Acetylamid und Benzoylamidoessigsäure richtig verwenden könnte. Die Hippursäure ist also das Amid eines aromatischen Körpers der Benzoësäure, dagegen gleichzeitig eine Amidoverbindung der Essigsäure. Wahrscheinlich auf dieser Constitution beruht nun die Unzerstörbarkeit dieses Körpers im Organismus und nicht auf ihrem Gehalt an einer aromatischen Substanz, da solche Substanzen keineswegs so unzerstörbar sind, wie man glaubt; aus den Untersuchungen von Schultzen und Naunyn [1]) geht mit Sicherheit hervor, dass grosse Mengen von Benzol durch den Organismus verbrannt werden, und es ist auch so gut wie erwiesen, dass die aromatische Gruppe des Eiweisses, welche bei einfacher Spaltung durch Säuren, Alkalien oder Pankreasferment in Form von Tyrosin sich abscheidet, unter normalen Verhältnissen im Organismus zerstört wird. Benzoësäure freilich wird reichlich unverändert ausgeschieden, wenn der Glycocollvorrath des Organismus nicht hinreicht, um sie vollständig in Hippursäure umzuwandeln; jedoch scheint ein Theil des Ueberschusses nach den Angaben von Meissner zu verbrennen.

Wir müssen aus vorstehenden Thatsachen den Schluss ziehen, dass amidartige Verbindungen analog dem Acetamid bei der Zerstörung der Eiweisskörper im

[1]) Reichert und Du Bois Archiv 1867, Heft 3.

dass auch die Harnsäure und deren Abkömmlinge, das Kreatin und andere ähnliche Basen, vielleicht auch die Hirn- und Nervenbestandtheile, ihre Entstehung einem synthetischen Processe verdanken.

In der Hauptsache geht demnach der Zerfall der Eiweisskörper im Organismus so von Statten, dass sie sich unter dem Einfluss der Fermente zum Theil vielleicht schon im Digestionstractus, aber der Hauptsache nach im Kreislauf der Säfte, unter Wasseraufnahme in Amidosäuren und N-freie Körper spalten; die letzteren verbrennen ohne Zweifel unter Mitwirkung des Hämoglobins als Sauerstoffträger vielleicht ohne Weiteres zu Kohlensäure und Wasser, während die Amidosäuren in der oben beschriebenen Weise in Harnstoff übergehen. Ein Theil des Stickstoffs der Eiweisskörper entweicht bei ihrer Behandlung mit Alkalien und alkalischen Erden (Baryt) in Gestalt von Ammoniak und zwar sehr leicht; ebenso bilden sich bei der Einwirkung concentrirter Mineralsäuren stets reichlich Ammoniaksalze. Ob auch im Organismus aus Eiweiss Ammoniak abgespalten wird, welches sich im Moment der Entstehung mit sich gleichzeitig bildender Cyansäure zu Harnstoff, oder mit Cyan zu Cyanamid und dann zu Harnstoff umsetzt, müssen wir einstweilen dahingestellt sein lassen, halten es aber nicht für unwahrscheinlich.

Ueber die täglichen Mengen Harnstoff, welche dem Leucin, Glycin und Tyrosin entstammen, lässt sich einstweilen noch nichts Sicheres aussagen, da wir die Constitution der Eiweiss- und Leimkörper nicht genau kennen. Sehr hoch sind die Werthe, welche Kühne[1]) bei seinen Pankreasverdauungsversuchen erhalten hat, indem 355 g im Wesentlichen aus trockenem Eiweiss bestehende Substanz 13.3 Tyrosin und 31.3 Leucin lieferten. Vorausgesetzt, dass hierbei sämmtliches im Eiweiss enthaltene Leucin und Tyrosin wirklich erhalten werde, könnten diese Zahlen ein annäherndes Maass für den auf solche Weise entstehenden Harnstoff geben. Eine einfache Rechnung ergiebt hiernach, wenn man den N-Gehalt des trockenen reinen Eiweisses nach Lieberkühn's sorgfältigen Analysen [2]) zu 15 Proc. berechnet, dass bei einem gesunden Menschen der täglich aus dem Leucin kommende Harnstoff etwa 3 g betragen würde.

Es gäbe aber wohl ein Mittel, um mit ziemlicher Sicherheit zu erfahren, wie viel Harnstoff täglich dem Glycocoll seinen Ursprung verdankt, da man durch Darreichung von Benzoësäure grosse Mengen von Glycocoll unverändert ausführen kann. Wenn es nun gelänge, das Maximum der möglichen Hippursäurebildung bei einem Individuum zu bestimmen und ein dem N des ausgeführten Glycins entsprechendes Deficit im Harnstoff in den Tagen der Benzoëfütterung nachzuweisen, so wäre die Frage gelöst.

Wir haben zu dem Zweck bei Hunden eine Reihe von Versuchen angestellt, welche jedoch sämmtlich missglückt sind, weil Hunde an grösseren Dosen Benzoësäure stets erkranken, erbrechen, die Nahrung verweigern und dadurch den Versuch vereiteln. Das passendste Object für derartige Versuche scheint der Mensch zu sein, und der Eine von uns wird demnächst solche Experimente mittheilen.

---

[1]) L. c.

[2]) Ueber Albumin und Casein, von N. Lieberkühn, Poggend. Annalen **86**, 117.

mehrfache Versuche überzeugt haben, in allen Fällen, um die gewünschte Umwandlung zu Stande zu bringen.

Jetzt vollendet man die erste Filtration, bringt den Niederschlag mit destillirtem Wasser aufs Filter und wäscht sorgfältig aus, trocknet Filter mit Niederschlag und erhält so nach Abzug des Filtergewichts das Gewicht des durch die Chlorbaryumlösung im angewandten Harn erzeugten Niederschlages $= b$, während wir das Gewicht der in das Rohr eingeschlossenen Harnmischung $C$ nennen.

Beim Eröffnen des Rohres und Wägen des gebildeten Baryumcarbonats verfährt man am besten folgendermaassen. Zunächst schneidet man nach vollständigem Erkalten des Rohres mit einem Messer die feine Spitze ab, durch welche meist etwas Gas entweicht, darauf erst macht man 2 bis 3" oberhalb des Flüssigkeitsniveaus mit dem Messer einen tiefen Querschnitt und sprengt das obere Stück der Röhre durch Aufsetzen eines zur Schmelzhitze erwärmten Glasstäbchens ab; der Sprung verläuft fast regelmässig genau horizontal ohne Splitterung; nun giesst man den Inhalt der Röhre vorsichtig durch ein gewogenes und angefeuchtetes, nicht zu kleines Filter und bringt durch Nachspülen und Schütteln mit destillirtem Wasser so viel wie möglich vom festen Inhalt der Röhre aufs Filter. Vollständig gelingt dies fast nie, da meistens etwas von dem Niederschlage in Gestalt feiner Körnchen fest an der Wandung des Glases haftet.

Diesen Rest bestimmt man so, dass man das Rohr vollständig mit destillirtem Wasser erschöpft, dann etwas Salzsäure hineingiesst, welche den Niederschlag unter Aufbrausen löst, und aus dieser Lösung den Baryt als schwefelsauren bestimmt, auf kohlensauren berechnet und das Gewicht hiervon zu dem des auf dem Filter gesammelten kohlensauren Baryts hinzuaddirt. Die Gesammtmenge des gefundenen Baryumcarbonats nennt man $K$.

Aus diesen Werthen stellt nun Bunsen nach einer im Original einzusehenden Rechnung folgende Gleichung auf:

$$p = \frac{30.41\ K(A + B - b)}{A.C}$$

wobei $p$ die Procentzahl für die Gewichtseinheit Harn bedeutet. Um diese zu finden, braucht man nur die gefundene Harnquantität mit dem specifischen Gewicht zu multipliciren.

So complicirt das Verfahren auf den ersten Blick erscheint, so gelingt es bei einiger Uebung doch mit Leichtigkeit, drei bis vier Analysen an einem Tage zu Stande zu bringen.

Gefundene Werthe für die Bestimmungen nach Bunsen.

| Datum | $K.$ | $A.$ | $A+B.$ | $b.$ | $C.$ |
|---|---|---|---|---|---|
| | | I. Acetamidversuch. | | | |
| 10. 8. 69 | 0.5346 | 39.3321 | 60.9505 | 0.4695 | 18.5526 |
| 11. „ „ | 0.9781 | 39.3129 | 52.7694 | 0.4820 | 27.1162 |
| 12. „ „ | 0.5136 | 50.4534 | 69.5154 | 0.4572 | 27.6596 |
| 13. „ „ | 0.8217 | 41.5217 | 58.3347 | 0.3678 | 30.3666 |

| Datum | K. | A. | A+B. | b. | C. |
|---|---|---|---|---|---|
| | | **II. Glycocollversuch.** | | | |
| 25. 8. 60 | 0.0023 | 43.7036 | 64.2624 | 0.4175 | 32.1217 |
| 26. - - | 1.7550 | 39.2972 | 65.0328 | 0.4409 | 30.9379 |
| 27. - - | 2.0104 | 47.5374 | 62.0302 | 0.4062 | 29.0077 |
| 28. - - | 1.0208 | 48.0901 | 62.7702 | 0.3905 | 27.9165 |
| | | **III. Leucinversuch.** | | | |
| 4. 10. 60 | 1.0202 | 48.0377 | 67.1205 | 0.5007 | 27.7181 |
| 5. - - | 0.0002 | 47.0501 | 62.6105 | 0.4343 | 31.7586 |
| 6. - - | 1.1230 | 44.4285 | 64.0557 | 0.5566 | 29.5899 |
| 7. - - | 1.5624 | 43.0450 | 62.6834 | 0.7099 | 31.6101 |
| 8. - - | 0.8950 | 51.8505 | 70.6175 | 0.4681 | 26.9031 |
| 9. - - | 1.0610 | 45.7383 | 60.4080 | 0.4400 | 31.1200 |
| | | **IV. Tyrosinversuch.** | | | |
| 31. 3. 70 | 1.4453 | 30.2251 | 42.0001 | 0.5025 | 31.9728 |
| 1. 4. - | 1.4432 | 37.0808 | 42.0030 | 0.5772 | 27.7359 |
| 2. - - | 2.0805 | 32.2130 | 37.0433 | 0.6256 | 27.5461 |
| 3. - - | 1.4500 | 32.2047 | 44.1806 | 0.6024 | 32.8537 |
| 4. - - | 1.1000 | 29.5425 | 35.3840 | 0.4514 | 23.0705 |

Die ersten Versuche mit Acetamid, welche wir vor Anwendung der Bunsen'schen Methode nach Liebig durch Titriren anstellten, ergaben in Bezug auf di Verwerthbarkeit der Liebig'schen Methode für solche Zwecke nicht unwichtig Resultate, weshalb wir die Beschreibung der Versuche hier folgen lassen.

Ein kleiner Wachtelhund, dessen Harnstoffausscheidung constant geworden war erhielt an zwei auf einander folgenden Tagen 15.0 und 20.0 Acetamid. Der Har wurde während der ganzen Zeit nach Liebig titrirt. In der nachfolgenden Tabell sind die Resultate zusammengestellt.

| Datum | Harnmenge in 24 Std. | Specif. Gewicht | Harnstoff in Proc. | Harnstoff in 24 Std. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|
| 15. 6. 1870 | 180 | 1.022 | 4.0 | 7.2 | |
| 16. - - | 170 | 1.023 | 3.8 | 0.7 | |
| 17. - - | 1?7 | 1.020 | 4.28 | 5.8 | 15.0 Acetamid |
| 18. - - | 127 | 1.020 | 0.0 | 8.4 | 20.0 Acetamid |
| 19. - - | 221 | 1.024 | 8.10 | 18.10 | |
| 20. - - | 143 | 1.025 | 0.24 | 8.02 | |
| 21. - - | 150 | 1.025 | 2.96 | 4.44 | |
| 22. - - | 1?2 | 1.031 | 4.3 | 5.6 | |

Es leuchtet aus obiger Tabelle ein, dass die Harnstoffmenge am 18., 19. und 20. erheblich vermehrt erschien und zwar, wenn man die tägliche Durchschnittsmenge zu [illegible] rechnet, um etwa 17 g mehr, als ohne die Acetamidfütterung ausgeschieden

worden wäre; die 17 g Harnstoff enthalten 7.9 N, die gefütterten 35 g Acetamid 8.2, die Differenz ist also verschwindend klein und liegt innerhalb der Fehlergrenzen.

Ein zweiter Versuch ergab folgende Werthe:

| Datum | Harnmenge in 24 Std. | Specif. Gewicht | Harnstoff in Proc. | Harnstoff in 24 Std. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|
| 13. 7. 69 | 150 | 1.022 | 2.86 | 4.29 | |
| 14. " " | 142 | 1.022 | 3.04 | 4.31 | |
| 15. " " | 180 | 1.016 | 2.28 | 4.1 | 15.0 Acetamid |
| 16. " " | 227 | 1.015 | 4.1 | 9.307 | 15.0 Acetamid |
| 17. " " | 310 | 1.015 | 4.3 | 13.33 | |
| 18. " " | 206 | 1.019 | 3.8 | 7.83 | |
| 19. " " | 145 | 1.021 | 2.91 | 4.22 | |

Der Stickstoff des überschüssigen Harnstoffs am 16., 17. und 18. beträgt etwa 6 g, der des zugeführten Acetamids etwa 7.0, also auch scheinbar fast vollständige Umwandlung.

Bald mussten wir uns aber überzeugen, dass die gewonnenen Resultate völlig werthlos waren, da auch das Acetamid mit Quecksilber eine Verbindung eingeht, welche im Verhältniss zum N ebenso viel Quecksilbernitrat verbraucht als der Harnstoff; die sonst so vortreffliche Liebig'sche Methode ergiebt, wie Voit mit Recht bemerkt, nicht eigentlich den Harnstoff, sondern den Stickstoff des Harns.

Schon bei der Titrirung des Harnes, der nach der Acetamidfütterung entleert war, machten wir die Beobachtung, dass der Harnstoffquecksilberniederschlag so ausserordentlich gering war, obwohl wir eine fast neutrale Quecksilbernitratlösung und genügende Barytmischung in Anwendung gebracht hatten, und obwohl der Punkt noch lange nicht erreicht war, wo durch kohlensaures Natron gelbe Färbung hervorgerufen wird. Der Niederschlag wurde erst entsprechend reichlich, wenn der Harn während der Titrirung von Zeit zu Zeit mit Alkali neutralisirt oder schwach alkalisch gemacht wurde. Dies ist bei der Quecksilberverbindung des Harnstoffs nicht der Fall, da diese in schwach saurer Flüssigkeit unlöslich ist. Als wir versuchten, den durch Alkali erzeugten Niederschlag auf einem Filter zu sammeln, löste sich beim Auswaschen mit dem Eintritt der neutralen Reaction Alles bis auf ungefähr diejenige Menge, welche gleich Anfangs niederfiel. Der durch Alkalizusatz entstehende Niederschlag verhielt sich genau so wie die durch Quecksilbernitrat in einer alkalischen Lösung von Acetamid erzeugten Fällungen. In neutralen oder auch sauren Lösungen des Acetamids erzeugt Quecksilberlösung keine Fällung, verhindert aber die Reaction mit kohlensaurem Natron so lange, bis alles Acetamid an Quecksilber gebunden ist. Die Liebig'sche Methode eignet sich demnach sehr gut, um den Gehalt reiner Acetamidlösungen zu bestimmen. Um aber den Harnstoff neben etwa durchgegangenem Acetamid exact bestimmen zu können, mussten wir uns nach anderen Methoden umsehen, denn alle Versuche, diese Körper direct darzustellen und von einander zu trennen, misslangen vollständig, und wir haben viel unnütze Zeit und Mühe damit verloren. Die Bunsen'sche Methode dagegen genügt allen Anforderungen.

Zum Schluss sei es noch erlaubt, für die vielfach uns zu Theil gewordene Unterstützung unsern Dank auszusprechen. Herr Dr. H. Kunheim hatte die grosse Güte uns die Verarbeitung grosser Quantitäten von Hornspänen in den geeigneten Apparaten seiner Fabrik in liberalster Weise zu gestatten. Ohne diese Vergünstigung wäre es uns unmöglich gewesen, ausreichende Quantitäten an Leucin und Tyrosin zu beschaffen.
Herrn Geheimrath Reichert sind wir zu aufrichtigem Danke verpflichtet, da er uns gestattete, diese Untersuchungen in dem Laboratorium der Anatomie zu Berlin auszuführen.

Dorpat, den 18. März 1872.

# 1870.

## Die Oxydation der aromatischen Verbindungen im Thierkörper

von

**M. v. Nencki.**

In.-Diss. vom 2. August. Berlin. Opponenten: F. von Chlapowski, R. Ziotecki, A. Mizerski. — Reichert's und du Bois-Reymond's Archiv, S. 399.

Den Herren B. Naunyn in Dorpat und O. Schultzen in Berlin freundschaftlichst gewidmet vom Verfasser.

Zwei Thatsachen sind es, die uns bei der Betrachtung der bis jetzt vorliegenden Untersuchungen über die Rolle der Benzolabkömmlinge im thierischen Haushalte auffallen.

Diese sind:

1. das Unangegriffensein des Benzolkerns, falls einer oder mehrere Wasserstoffe desselben durch kohlenstoffhaltige Seitenketten vertreten sind, und
2. die Paarung, die die dem Thierkörper zugeführten oder in ihm gebildeten aromatischen Carbonsäuren mit dem Glycocoll eingehen.

In Anbetracht, dass die aromatischen Verbindungen zu den im regelmässigen Stoffwechsel vorkommenden Substanzen gehören, ist die Kenntniss der Umwandlungen derselben von hohem Interesse, zumal die Beständigkeit des Benzolkerns gegen die oxydirenden Agentien des Organismus die Untersuchung wesentlich erleichtert und auch quantitative Bestimmungen zulässt. Ich habe nun in Folgendem durch Zusammenstellung des bis dahin darüber experimentell Erwiesenen, zum Theil auch neu von mir Beobachteten die Frage zu beantworten gesucht, welche von den aromatischen Substanzen den Organismus als Hippursäure verlassen, welche dagegen nur als Homologe derselben oder gar unverändert ausgeschieden werden; denn es unterliegt wohl keinem Zweifel, dass ebenso wie gewisse chemische Gruppen und deren homologe Reihen gegen bestimmte Reagentien ein analoges Verhalten zeigen, sie sich auch im

$C_6H_5—C_3H_7$ Propylbenzol (Cumol aus Cuminsäure)

$C_6H_5—C_5H_{11}$ Amylbenzol

u. s. w.

im Organismus zu Benzoësäure oxydirt und in Verbindung mit Glycocoll als Hippursäure ausgeschieden wird.

Dieselben Forscher haben ferner a. a. O. gefunden, dass das Xylol aus Steinkohlentheer $C_6H_4\begin{cases}CH_3\\CH_3\end{cases}$ ebenfalls im Thierkörper einer Oxydation unterworfen wird; jedoch von den zwei darin vorhandenen Methylseitenketten wurde nur eine zu CO—OH oxydirt. — Dieser Versuch ist wichtig. — Nach den neuerdings veröffentlichten Untersuchungen von Fittig [1]) ist das Xylol aus Steinkohlentheer ein Gemenge von zwei Isomeren, dem Methyltoluol und dem Metaxylol, die beide die Formel: $C_6H_4\begin{cases}CH_3\\CH_3\end{cases}$ haben, und deren Verschiedenheit nur durch die relative Stellung zum Benzolkern der beiden Seitenketten bedingt ist. Sie liefern beide bei anhaltender Oxydation mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure die zwei isomeren Dicarbonsäuren, von denen die eine die Terephtalsäure ist, die zweite von Fittig Isophtalsäure genannt wurde. Da nun durch Kochen mit verdünnter Salpetersäure in allen aromatischen Kohlenwasserstoffen, welche zwei Alkoholradicale enthalten, nur eins oxydirt wird [2]), so ersehen wir hieraus, dass im Organismus die schwächere Einwirkung stattgefunden hat, und dass, sobald die Gruppe CO—OH im Molekül vorhanden ist, eine Paarung mit Glycocoll stattfindet. Es wäre ferner von Interesse, zu eruiren, ob in den dem Xylol homologen Kohlenwasserstoffen, wo in den zwei als Seitenketten vorhandenen Alkoholradicalen der Gehalt an Kohlenstoff verschieden ist, stets die mit dem höheren Kohlenstoffgehalte zu Carboxyl oxydirt werde, wie es bei der Behandlung mit Salpetersäure der Fall ist. Versuche, die ich nach dieser Richtung hin mit dem Cymol (Methyl-Propylbenzol) angestellt habe, scheiterten an der geringen Quantität des mir zu Gebote stehenden Materials. Eine Wiederholung des Versuches mit dem durch Erhitzen des Camphers mit Chlorzink leichter zu beschaffenden $\beta$-Cymol wird wahrscheinlich eher zum Ziele führen. Nach dem Vorangehenden müsste man auch erwarten, dass die im Organismus gebildeten oder ihm zugeführten der Benzoësäure homologen Carbonsäuren:

$C_6H_4\begin{cases}CH_3\\COOH\end{cases}$ $\beta$-Toluylsäure

$C_6H_4\begin{cases}C_2H_5\\COOH\end{cases}$ Aethylbenzoësäure

$C_6H_4\begin{cases}C_3H_7\\COOH\end{cases}$ Propylbenzoësäure (Cuminsäure)

u. s. w.

---

1) R. Fittig und J. Volguth, Ann. Chem. Pharm. **148**, 1 und R. Fittig, Ann. Chem. Pharm. **153**, 265 ff.

2) R. Fittig und J. König, Ann. Chem. Pharm. **144**, 277.

im Harne als die entsprechenden Hippursäuren erscheinen werden. Dies ist jed
nur für das erste Glied, die β-Toluylsäure, mit positivem Resultate von Kraut
wiesen worden; dagegen hat Kraut gemeinschaftlich mit Hoffmann die Cun
säure unverändert im Harne wiedergefunden. Versuche mit aromatischen Säu
in denen noch ein Wasserstoff- durch ein zweites Alkoholradical vertreten und de
erstes Glied die Mesitylensäure:

$$C_6H_3\begin{cases}CH_3\\CH_3\\COOH\end{cases}$$

wäre, sind bis jetzt nicht angestellt worden, wenn es auch wahrscheinlich ist, (
hier ebenfalls nur eine einfache Paarung mit Glycocoll stattfinden wird.

Nach der von Kekulé entwickelten Theorie können im Benzol $C_6H_6$ je ei
zwei oder auch mehr Wasserstoffe durch die Hydroxylgruppe OH vertreten wer
und so Substanzen liefern, die als Mono-, Bi- und Trioxylderivate des Benzols
trachtet werden.

$$C_6H_5OH \qquad C_6H_4\begin{cases}OH\\OH\end{cases} \qquad C_6H_3\begin{cases}OH\\OH\\OH\end{cases}$$

Phenol — z. B. Brenzcatechin — z. B. Pyrogallussäure.

Jede von diesen Substanzen ist der Ausgangspunkt für eine Reihe von V
bindungen, die durch Vertretung der noch übrigen Wasserstoffe durch Kohlenwas
stoffe, Alkohole, Säuren u. s. w. aus den verschiedenen chemischen Gruppen s
ableiten. Es werden sowohl hierdurch wie auch durch die verschiedene Stell
der Seitenketten zum Benzolkern zahlreiche Isomerien bedingt. Im Folgenden
es gestattet, nur so weit die Theorie zu berücksichtigen, als es für das Verständ
der Modificationen nöthig ist, die solche Verbindungen im Thierkörper erleiden.

Während im Benzol durch Eintritt der Carboxylgruppe nur eine Benzoësä
möglich ist, haben wir im Oxylbenzol (Phenol) drei isomere Säuren, nämlich:

Oxybenzoësäure,
Paraoxybenzoësäure und
Salicylsäure,

denen allen die Formel: $C_6H_4\begin{cases}OH\\CO-OH\end{cases}$ zukommt, und deren Verschiedenheit
durch die relative Stelle 1 : 2, 1 : 3 oder 1 : 4, die die beiden Seitenketten im Ben
kern zu einander haben, bedingt ist. Bertagnini[1]) hat zuerst beobachtet, dass a
diese aromatischen Oxycarbonsäuren sich im Thierkörper ebenso wie die Benzoës
und deren Homologe verhalten. Nach Genuss von Salicylsäure hat er im Ha
Salicylursäure gefunden. Seitdem sind noch einige Versuche mit den vom Phe
sich ableitenden Substanzen angestellt worden, und wir dürfen schon jetzt mit e
gewissen Wahrscheinlichkeit über das Verhalten der übrigen Phenolderivate
Organismus uns eine Ansicht bilden. So will ich hier zunächst einen von mir
gestellten Versuch anführen, durch den es erwiesen wurde, dass auch Alkohole
fetten Reihe, wenn sie im Phenol als Seitenkette enthalten sind, zu Wasser

[1]) Ann. d. Chem. u. Pharm. **97**, 248.

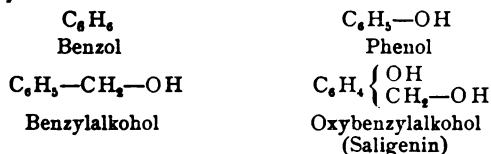
Kohlensäure oxydirt werden, und dass diese gebunden an die aromatische Gruppe die Paarung mit Glycocoll eingeht. Bekanntlich zerfällt Salicin durch Einwirkung von Emulsin und anderen Fermenten leicht in Dextrose und Saligenin.

---

Lehmann[1]) hat eine Reihe von Versuchen mit Salicin angestellt, um die Veränderung dieses Glucosids im Thierkörper zu eruiren. Die geringen Mengen der genossenen Substanz (1.2 bis 1.8 g) haben ihn wahrscheinlich verhindert, den richtigen Sachverhalt zu constatiren. Er giebt an, danach im Harne Salicylwasserstoff und geringe Mengen von Hippursäure gefunden zu haben. Später hat Dr. H. Landerer[2]) den Harn eines Mannes, der durch Zufall ungefähr 2 Quentchen Salicin zu sich genommen hatte, untersucht. Landerer hat darin Saliretin gefunden; indessen die Art der Untersuchung war höchst unzweckmässig (der Harn wurde zur Syrupconsistenz eingedampft, mit Weingeist versetzt und mehrere Stunden mit verdünnter Schwefelsäure digerirt), so dass man auf jene Angabe kein Gewicht legen konnte. Meines Wissens sind das die einzigen darüber in der Literatur verzeichneten Experimente, und die in den Lehrbüchern vorhandenen Angaben dürften, falls sie nicht die Wiederholung der Beobachtungen von Lehmann sind, auf eigenen Combinationen beruhen.

---

Das Saligenin geht durch oxydirende Agentien leicht in Salicylaldehyd und Salicylsäure über. Umgekehrt wird Salicylaldehyd durch Reduction mit Natriumamalgam zu Saligenin[3]). Das ganze Verhalten weist also darauf hin, dass wir das Saligenin als einen wahren aromatischen Alkohol aufzufassen haben, d. h. von den zwei darin enthaltenen Hydroxylgruppen steht die eine mit dem Kohlenstoff des Benzolkerns in directer Bindung, die andere dagegen befindet sich in dem als Seitenkette vorhandenen Radical, und ihr Sauerstoff hängt an dem Kohlenstoff dieser Seitenkette. Das Saligenin ist der Methylalkohol des Phenols und verhält sich zu diesem wie der Benzylalkohol zum Benzol.

| | |
|---|---|
| $C_6H_6$<br>Benzol | $C_6H_5—OH$<br>Phenol |
| $C_6H_5—CH_2—OH$<br>Benzylalkohol | $C_6H_4\begin{cases} OH \\ CH_2—OH \end{cases}$<br>Oxybenzylalkohol<br>(Saligenin) |

Frerichs und Wöhler haben gefunden, dass Bittermandelöl den Thierkörper als Hippursäure verlässt. Es war daher auch wahrscheinlich, dass Saligenin zu Salicylsäure oxydire und dann den Organismus als Salicylursäure verlasse. — Der Versuch hat die Erwartung bestätigt. — Das zur Verwendung gekommene Saligenin wurde aus dem Salicin durch Gährung mit Emulsin gewonnen und durch wiederholte Krystallisation aus Aether oder Benzol in vollkommen reinem Zustande erhalten. Es wurden davon zu verschiedenen Zeiten täglich 5 bis 7 g in kleinen Portionen eingenommen. Der innerhalb der folgenden 48 Stunden gelassene Harn

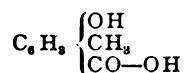
---

[1]) Wagner's Handwörterbuch der Physiologie **2**, 15.

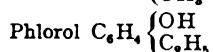
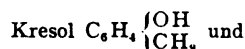
[2]) Chem. Centralblatt v. Jahre 1864, S. 272.

[3]) F. Beilstein u. A. Reinecke, Annal. d. Ch. u. Pharm. **128**, 179.

auch am dritten Tage bis etwa 4 Uhr Nachmittags, wo die Reaction eine mehr schmutzig violette Farbe annahm. Um 9 Uhr Abends desselben Tages wurde der Harn durch Eisenchlorid nicht mehr gefärbt. Es dauerte also die Ausscheidung der Salicylursäure von 8½ Uhr Abends des ersten bis etwa 4 Uhr Nachmittags des dritten Versuchstages, im Ganzen über 43 Stunden. Es ist klar, dass solche Thatsachen bei etwaigen quantitativen Bestimmungen zu berücksichtigen sind, da sie, falls der Harn nur von den folgenden 24 Stunden untersucht wird, eine nicht unerhebliche Fehlerquelle ausmachen müssen. Dass die der Salicylsäure homologe Kresotinsäure

$$C_6H_3\begin{cases}OH\\CH_3\\CO{-}OH\end{cases}$$

keiner Oxydation im Thierkörper unterworfen ist, sondern nach Analogie der Toluylsäure als entsprechende Glycocollverbindung ausgeschieden wird, unterliegt wohl keinem Zweifel, da ja auch die der Kresotinsäure isomere, nur durch die Stellung der Methylgruppe, die in der letzten Säure den H des Hydroxyls vertritt, verschiedene Anissäure im Harne als Anisursäure erscheint[1]). Dagegen ist es unwahrscheinlich, dass die wahren Homologen des Phenols:

$$\text{Kresol } C_6H_4\begin{cases}OH\\CH_3\end{cases} \text{ und}$$

$$\text{Phlorol } C_6H_4\begin{cases}OH\\C_2H_5\end{cases}$$

einer Oxydation unterworfen werden. Das Kresol wird beim Behandeln mit chromsaurem Kalium und Schwefelsäure zu Phloron; das Thymol (Methyl-propyl-phenol) liefert bei ähnlicher Oxydation das Thymoil, Körper, die wenig bekannt sind, und die von Kekulé[2]) als wahrscheinliche Homologe des Chinons aufgefasst werden. Man kann sich auch kein Urtheil erlauben über das Verhalten der Anisole. Sie sind bekanntlich durch ihre Beständigkeit gegen oxydirende Agentien ausgezeichnet, und Versuche nach dieser Richtung hin würden vielleicht manchen wichtigen Aufschluss sowohl in rein chemischer als wie auch physiologischer Beziehung zur Folge haben.

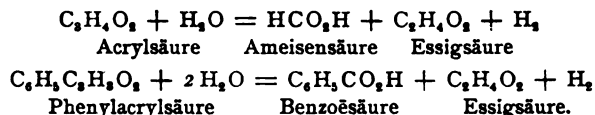
Von denjenigen aromatischen Säuren, die eine an Kohlenstoff reichere Seitenkette enthalten, wurden nur wenige dem Versuche unterworfen. Schultzen und Graebe[3]) haben nach Einnehmen von Mandelsäure gewöhnliche Hippursäure im Harne gefunden. Die Mandelsäure $C_6H_5{-}C_2H_3O_3$ ist Phenylglycolsäure, d. h. Glycolsäure, in welcher ein H durch den Benzolkern $C_6H_5$ ersetzt ist. So wird in der Phenylglycolsäure und der ihr homologen Phenylmilchsäure durch Einwirkung von Bromwasserstoff der alkoholische Wasserrest (ähnlich wie in der Milchsäure selbst) durch Brom ersetzt. Wird die so entstandene Phenylbromessigsäure: $C_6H_5{-}CHBrCOOH$, in alkoholischer Lösung mit Natriumamalgam behandelt, so geht sie in die $\alpha$-Toluylsäure (Phenylessigsäure) über[4]). Auch die

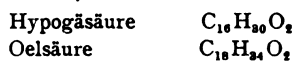
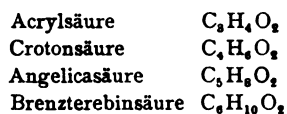
---

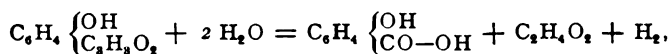
[1]) Schultzen und Graebe a. a. O., S. 3.
[2]) Kekulé, Lehrbuch der org. Chem. **3**, 146.
[3]) Schultzen und Graebe a. a. O., S. 4.
[4]) C. Glaser und B. Radziszewski. Zeitschrift für Chem. N. F., **4**, 140..

Zimmtsäure erscheint im Harn als gewöhnliche Hippursäure (vergl. Erdmann und Marchand[1]) wieder. Sie gehört zu den lückenhaften Säuren und ist ihrer Bildung sowie ihren Eigenschaften nach als Phenylacrylsäure anzusehen, in welcher der Acrylsäurerest noch alle den Säuren der Oelsäurereihe eigenthümlichen Eigenschaften zeigt. Während die Acrylsäure beim Schmelzen mit Kali in Ameisensäure und Essigsäure zerfällt, liefert die Zimmtsäure bei ähnlicher Behandlung Benzoësäure und Essigsäure.

$$\underset{\text{Acrylsäure}}{C_3H_4O_2} + H_2O = \underset{\text{Ameisensäure}}{HCO_2H} + \underset{\text{Essigsäure}}{C_2H_4O_2} + H_2$$

$$\underset{\text{Phenylacrylsäure}}{C_6H_5C_2H_2O_2} + 2\,H_2O = \underset{\text{Benzoësäure}}{C_6H_5CO_2H} + \underset{\text{Essigsäure.}}{C_2H_4O_2} + H_2$$

Die Phenylacrylsäure nimmt ferner nach den Untersuchungen von Erlenmeyer und Schmidt, wie die Acrylsäure selbst, durch Addition noch $H_2$ oder $Br_2$ auf, und bildet die Hydrozimmtsäure, die man dem entsprechend als Phenylpropionsäure bezeichnet. Es ist demnach auch hier anzunehmen, dass sowohl die Säuren der Milchsäurereihe wie die wasserstoffärmeren lückenhaften Säuren:

| | |
|---|---|
| Acrylsäure | $C_3H_4O_2$ |
| Crotonsäure | $C_4H_6O_2$ |
| Angelicasäure | $C_5H_8O_2$ |
| Brenzterebinsäure | $C_6H_{10}O_2$ |
| . | |
| . | |
| . | |
| Hypogäsäure | $C_{16}H_{30}O_2$ |
| Oelsäure | $C_{18}H_{34}O_2$ |

falls ein H derselben durch den Benzolrest $C_6H_5$ vertreten ist, im Thierkörper oxydirt und als Hippursäure ausgeschieden werden. Die hierher gehörigen Substanzen sind nur zum Theil bekannt; indessen ist es möglich, synthetisch durch Einwirkung von Chloriden der Essigsäurereihe auf die aromatischen Aldehyde die entsprechenden Phenylverbindungen der Oelsäuregruppe darzustellen. So haben neuerdings Fittig[2]) und Bieber durch Erhitzen von gleichen Gewichtstheilen Bittermandelöl und Butyrylchlorid in zugeschmolzenem Rohr auf 130° die Phenylangelicasäure erhalten. Die Annahme, dass auch die kohlenstoffreicheren aromatischen Oxysäuren ein der Zimmtsäure analoges Verhalten haben, ist jedenfalls berechtigt, wenn auch bis jetzt keine Untersuchungen darüber vorliegen. Es ist wahrscheinlich, dass die durch anhaltendes Kochen mit concentrirter Kalilauge aus dem Cumarin gewonnene Cumarsäure den Thierkörper als Salicylursäure verlassen wird. Die Cumarsäure zerfällt beim Schmelzen mit Kalihydrat in Salicylsäure, Essigsäure und Wasserstoff.

$$C_6H_4\begin{cases}OH\\C_3H_3O_2\end{cases} + 2\,H_2O = C_6H_4\begin{cases}OH\\CO-OH\end{cases} + C_2H_4O_2 + H_2,$$

ein Vorgang, der der Oxydation der Zimmtsäure völlig analog ist. Sie geht ferner unter Aufnahme von 2 H in die Hydrocumarsäure (Melilotsäure) über und ist demnach die Oxyphenylacrylsäure, während man die Melilotsäure als Oxyphenyl-

[1]) Journal für praktische Chemie **35**, 307.

[2]) Annal. der Chem. u. Pharm. **153**, 358.

propionsäure bezeichnen kann. Es wäre sehr wünschenswerth, gerade mit Cumarsäure Versuche an Thieren anzustellen, da das Cumarin, welches man als Anhydrid der Cumarsäure auffassen könnte, den Organismus unverändert passirt.

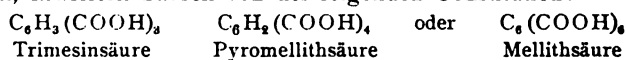
Von besonderem Interesse ist das Verhalten der Chinasäure, die nach den Versuchen von Lautemann den Körper als Hippursäure verlässt. Die Constitution dieser Substanz ist noch nicht genügend festgestellt. Graebe, der als das eigentliche Wesen der aromatischen Verbindungen nicht die abwechselnd einfache und doppelte Bindung der sechs Kohlenstoffatome unter einander, sondern das ringförmige Zusammenhängen derselben ansieht, stellt die Formel der Chinasäure als $= C_6H_7(OH)_4(CO_2H)$ auf. Von den 24 Verwandtschaftseinheiten der 6 Kohlenstoffatome im Benzolkern stünden demnach nur 12 in einfacher Bindung unter einander. Die übrigen 12 würden durch Wasserstoff, Hydroxyl und Carboxyl, wie es die Formel zeigt, vertreten. Die Veränderung, die die Chinasäure im Organismus erleidet, ist insofern interessant, als hier die Umwandlung zur Benzoësäure auf einer Reduction beruht. Man hat bei mehreren physiologischen Vorgängen nicht bloss Oxydation, sondern auch Synthesen und Reductionen zu beobachten. Der Ort des Vorganges selbst und die Art, wie diese Umsetzungen vor sich gehen, ist uns vollständig unbekannt. Man ersieht aber, von wie hoher Wichtigkeit die Kenntniss dieser Processe ist, und wie unzulässig alle Berechnungen sind, die nur auf den letzten Stoffumsatzproducten beruhen.

Wir haben bis jetzt nur diejenigen aromatischen Säuren der Betrachtung unterzogen, in denen die CO—OH-Gruppe einmal enthalten ist. Es ist aber klar, dass die sämmtlichen 6 Wasserstoffe des Benzolkerns durch saure Seitenketten vertreten werden können und so zwei- oder mehrbasische Säuren liefern. Mit der hierher gehörenden zweibasischen Phtalsäure haben Schultzen und Graebe Versuche angestellt. Sie geben an, im Aetherextract des Harnes eine schwer in Krystallen zu erhaltende, in Wasser ungemein lösliche stickstoffhaltige Säure gefunden zu haben, jedoch in so geringer Menge, dass es nicht gelang, eine zur Analyse ausreichende Menge reiner Substanz zu erhalten. Ich habe die Versuche am Menschen wiederholt, gleichfalls mit negativem Resultate. Bei Hunden dagegen, die schon nach Fütterung mit Benzoësäure relativ nur sehr geringe Mengen derselben als Hippursäure ausscheiden (ich habe wiederholt beobachtet, dass grosse Hunde von etwa 40 kg Körpergewicht schon nach Fütterung mit 1 g benzoësaurem Natron neben Hippursäure im Harne auch unveränderte Benzoësäure hatten), ist es mir gelungen, Phtalsäure unverändert aus dem Harne darzustellen.

Einem Hunde von 8 kg Körpergewicht wurde innerhalb 24 Stunden in zwei Portionen 1.5 g reine aus Naphtalin dargestellte Phtalsäure eingegeben. Der in den folgenden 24 Stunden gelassene Harn wurde jedesmal frisch mit basischem Bleiacetat gefällt und der Niederschlag filtrirt, ausgewaschen und mit $H_2S$ zerlegt. Aus dem Schwefelbleifiltrate schieden sich beim Eindampfen Krystalle aus, die auf dem Filter gesammelt, abgepresst und durch Kochen mit Thierkohle von dem anhaftenden Farbstoffe befreit wurden. Die Substanz krystallisirte aus heisser wässeriger Lösung in kleinen isolirten, vierseitigen Tafeln und reagirte sauer; beim Glühen mit Kalium entwickelte sie den Geruch nach Benzol und war stickstoff-

frei. — Ihr Schmelzpunkt war bei 180 bis 185°, auch hatte sie den für die Phtalsäure charakteristischen Geschmack. Es unterliegt demnach keinem Zweifel, dass ich die unveränderte Substanz aus dem Harne erhalte habe. Jedenfalls ist durch diesen Versuch bewiesen worden, dass auch die zweibasischen aromatischen Carbonsäuren im Thierkörper nicht angegriffen werden. Es ist auch wahrscheinlich, dass sie sich mit Glycocoll verbinden, da ich aus Menschenharn keine Phtalsäure nach Genuss von etwa 2.0 g erhalten konnte. Versuche mit der in Wasser unlöslichen Terephtalsäure würden vielleicht leichter zum Ziele führen, da die Isolirung der im Körper gebildeten Terephtalsäure aus dem Harn nicht so schwierig sein dürfte. Die übrigen drei- und mehrbasischen Benzolcarbonsäuren sind erst in der letzten Zeit durch die schönen Untersuchungen von Baeyer über die Mellithsäure bekannt geworden. Es muss daher auch ferneren Versuchen vorbehalten bleiben zu entscheiden, inwiefern Säuren von der folgenden Constitution:

$$C_6H_3(COOH)_3 \quad C_6H_2(COOH)_4 \quad \text{oder} \quad C_6(COOH)_6$$

Trimesinsäure Pyromellithsäure Mellithsäure

im Organismus sich mit Glycocoll verbinden oder, nachdem durch den Eintritt von vielen Seitenketten die Beständigkeit des Benzolringes gelockert worden ist, einer weiteren Zerstörung unterworfen werden.

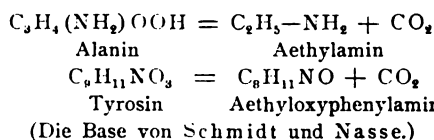
Ueber das Verhalten der aromatischen Amidosäuren im Organismus liegen bis jetzt keine Untersuchungen vor. Bekanntlich ist das Tyrosin ein Spaltungsproduct der Albuminate und ein normal im Organismus und bei vielen pathologischen Processen vorkommender Körper, eine aromatische Substanz, die man ihrem Verhalten nach als eine Amidosäure auffassen kann, wenn auch ihre Constitution trotz sehr zahlreichen, von verschiedenen Chemikern darauf gerichteten Versuchen bis jetzt nicht festgestellt worden ist. So zerfällt das Tyrosin ähnlich wie die anderen Amidosäuren bei der trockenen Destillation in Kohlensäure und eine Amidbase:

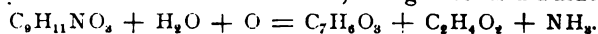
$$C_3H_4(NH_2)OOH = C_2H_5{-}NH_2 + CO_2$$

Alanin Aethylamin

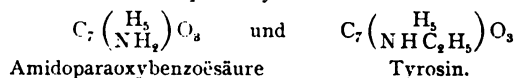
$$C_9H_{11}NO_3 = C_8H_{11}NO + CO_2$$

Tyrosin Aethyloxyphenylamin

(Die Base von Schmidt und Nasse.)

Später hat Barth durch Schmelzen des Tyrosins mit Kalihydrat als Oxydationsproducte des Tyrosins beobachtet: Ammoniak, Essigsäure und Paraoxybenzoësäure:

$$C_9H_{11}NO_3 + H_2O + O = C_7H_6O_3 + C_2H_4O_2 + NH_3.$$

Barth hielt es nach dieser Entdeckung für wahrscheinlich, dass das Tyrosin ein einfaches Derivat der Amidoparaoxybenzoësäure sei:

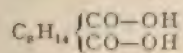
$$C_7\begin{pmatrix}H_5\\NH_2\end{pmatrix}O_3 \quad \text{und} \quad C_7\begin{pmatrix}H_5\\NHC_2H_5\end{pmatrix}O_3$$

Amidoparaoxybenzoësäure Tyrosin.

Dass indessen die Aethylamingruppe nicht im Benzolkern des Tyrosins enthalten ist, wurde wahrscheinlich nach dem Versuche von Hüfner, welcher zeigte, dass das Tyrosin beim Erhitzen mit Jodwasserstoff nicht in Aethylamin, sondern in Ammoniak gespalten werde. Die von Hüfner ausgesprochene Vermuthung, dass das Tyrosin eine Amidophloretinsäure sei, konnte bis jetzt nicht experimentell bewiesen werden, da es noch nicht gelungen ist, eine Mononitrophloretinsäure dar-

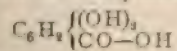
zustellen, aus der dann eine Amidosäure hätte gebildet werden können. Ich habe gemeinschaftlich mit Dr. Schultzen Fütterungsversuche mit Tyrosin angestellt, und in einer ausführlicheren Abhandlung werden wir demnächst die dabei erzielten Resultate veröffentlichen. Hier will ich den Punkt nur so weit berühren, als es in Bezug auf die aromatische Gruppe im Molekül dieses Körpers von Interesse ist. So haben wir gefunden, dass bei Hunden nach Fütterung selbst mit grossen Mengen Tyrosins (20 g am Tage) im Harne weder Hippursäure noch irgend eine aromatische Carbonsäure erscheint. Dagegen haben wir sowohl in den Fäces als auch im Harne grosse Mengen der unveränderten Substanz gefunden. Dieses Verhalten stimmt mit dem der Hippursäure, welche ebenfalls unverändert ausgeschieden wird, überein; auch zeigt der Mangel irgend eines aromatischen Zersetzungsproductes deutlich, dass die normal im Harne vorkommende Hippursäure nicht von der im Eiweiss als Tyrosin enthaltenen aromatischen Gruppe abstammen kann.

Dass nicht alle aromatischen Säuren im Organismus die Paarung mit Glycocoll eingehen, haben wir schon oben gelegentlich der Cuminsäure gesehen. — Kraut hat nach Einnehmen dieser Säure sie unverändert im Harne gefunden. Aehnliches Verhalten zeigte auch die kürzlich von A. W. Hofmann[1]) dargestellte Menaphtoxylsäure; nach Einnehmen von 1.5 g reiner Substanz, die ich der Güte des Herrn Prof. A. W. Hofmann verdanke, wurde der in den folgenden 24 Stunden gelassene Harn genau nach der oben gelegentlich der Salicylursäure angegebenen Methode behandelt. Der abdestillirte Aether hinterliess eine saure Flüssigkeit, die bald zu einem aus langen Nadeln bestehenden Krystallbrei erstarrte; die auch in heissem Wasser schwer löslichen Krystalle wurden in das Barytsalz verwandelt und mit Salzsäure zersetzt. Die Säure beim Glühen mit Kalium roch deutlich nach Naphtalin und war stickstofffrei, ihr Schmelzpunkt war genau 160°. Es war demnach die unveränderte Menaphtoxylsäure, die ich aus dem Harne gewonnen hatte. Dieses Verhalten der beiden Säuren ist jedenfalls auffallend, da weder die Constitution der Cuminsäure noch etwa die dichtere Aneinanderlagerung der Kohlenstoffatome in der Hauptkette der Naphtylcarbonsäure eine genügende Erklärung dafür abgeben.

Es ist wohl denkbar, dass die Anhäufung von vielen Seitenketten im Benzolkern bei gewissen aromatischen Säuren die Paarung mit dem Glycocoll im Organismus hindert. So wird z. B. nach den Versuchen von Bertagnini[2]) die Camphersäure unverändert ausgeschieden, wenn man auch mit Sicherheit annehmen kann, dass die 4 Sauerstoffatome in Form von Carboxylen in der Camphersäure enthalten sind, und dass ihr die Formel

$$C_8H_{14}\begin{cases}CO-OH\\CO-OH\end{cases}$$

zukommt[3]).

Auch die Gallussäure, die man als Bioxysalicylsäure auffassen kann,

$$C_6H_2\begin{cases}(OH)_3\\CO-OH\end{cases}$$

wird unverändert ausgeschieden.

[1]) Berichte der deutsch. chem. Gesellsch. zu Berlin **1**, 38.
[2]) Ann. d. Chem. u. Pharm. **97**, 248 ff.
[3]) Victor Meyer, Berichte der deutschen chem. Gesellschaft zu Berlin **3**, 116.

Wenn wir nun in Kurzem die vorliegenden Thatsachen zusammenfassen, so lassen sich folgende Gesetze für das Verhalten der aromatischen Verbindungen ableiten:

1. In allen aromatischen Substanzen, die eine oder mehrere kohlenstoffhaltige Seitenketten enthalten, wird der Benzolkern im Organismus nicht angegriffen.

2. Wird im Benzolkern neben der kohlenstoffhaltigen Seitenkette noch ein zweiter H durch Cl, $NO_2$ oder OH vertreten, so ist das Verhalten der so entstandenen Säuren der nicht substituirten Verbindung gleich.

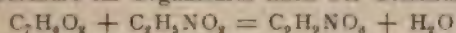
3. Nur die Substanzen, die eine kohlenstoffhaltige Seitenkette enthalten, werden als Hippursäure ausgeschieden; in denen, die zwei kohlenstoffhaltige Seitenketten enthalten, wird nur eine zu CO—OH oxydirt, und falls die CO—OH-Gruppe schon darin vorhanden ist, findet nur eine einfache Paarung mit Glycocoll statt. Da die Richtigkeit dieser Sätze sowohl in rein theoretischer als auch physiologischer Hinsicht von hohem Interesse ist, so sei es gestattet, auf die widersprechenden Behauptungen von Meissner und Shepard mit einigen Worten einzugehen.

Meissner und Shepard[1]) geben an, dass nach Einnehmen von Benzoësäure im Speichel, Schweiss und im Harn Bernsteinsäure von ihnen über die Norm vermehrt gefunden wurde, und dieser Befund wird nun so gedeutet, dass die Benzoësäure im Thierkörper zu Bernsteinsäure oxydirt werde. Nach Genuss von 7.6 g Benzoësäure (S. 31) war im Harne nur Hippursäure, dagegen im Speichel Benzoësäure und Bernsteinsäure vorhanden. Die aus dem Harne erhaltene Hippursäure betrug 8.02 g; es fehlten demnach 2.65 g Hippursäure, welche beinahe 2.5 g Benzoësäure entsprechen, da 7.6 g Benzoësäure = 11.15 g Hippursäure sind. Die fehlenden 2.0 g Benzoësäure wurden nun nach Meissner und Shepard zu Bernsteinsäure. Um ihre Annahme auch chemisch zu verificiren, haben sie Benzoësäure mit Bleisuperoxyd und Schwefelsäure behandelt, und nach beendigter Reaction eine im Aether wenig lösliche Säure erhalten, die sie als Bernsteinsäure bezeichnen. Dass immer nur geringe Mengen der Säure gewonnen wurden, erklären die genannten Autoren in der Weise, dass die bei der Oxydation der Benzoësäure gebildete Bernsteinsäure selbst weiter zerstört worden sei — eine Erklärung, die immerhin etwas Auffallendes an sich hat, da ja die Bernsteinsäure sich durch Beständigkeit gegen oxydirende Agentien auszeichnet. Sie wird von chlorsaurem Kali und Salzsäure nicht angegriffen, und erst beim Eindampfen zur Trockne mit Braunstein und Schwefelsäure soll sich Essigsäure bilden (Trommsdorf). — Dass die von Meissner und Shepard erhaltene Säure nicht Bernsteinsäure, sondern Phtalsäure war, ist nach den Versuchen von Carius höchst wahrscheinlich. — Carius[2]) hat gelegentlich seiner „Neuen Synthese der aromatischen Säuren" als die einzigen Producte der Einwirkung von Oxydationsmitteln auf Benzoësäure — es wurden sowohl Mangansuperoxyd, Bleisuperoxyd, als auch Chromsäure in Anwendung gebracht — Ameisensäure und Phtalsäure erhalten, abgesehen von der als Zerstörungsproduct auftretenden Kohlensäure. Wenn

[1]) Untersuchungen über das Entstehen der Hippursäure im thierischen Organismus. Hannover 1866.

[2]) Ann. Chem. Pharm. **148**, 72.

demnach schon aus obigem Grunde die Annahme, dass der Organismus Benzoësäure in Bernsteinsäure umwandle, unwahrscheinlich ist, so lassen sich auch manche Fehlerquellen für die quantitative Bestimmung Meissner's und Shepard's nachweisen. Ich habe zu wiederholten Malen beobachtet, dass, nachdem ich Saligenin eingenommen hatte, die Ausscheidung der Salicylursäure noch über 40 Stunden fortdauerte; und doch ist es klar, dass die Menge der ausgeschiedenen Säure mit zunehmender Zeit nicht in einfach proportionalem, sondern in viel rascherem Verhältnisse abnimmt. Meissner und Shepard haben dagegen für ihre quantitative Bestimmung den Harn nur von 11 Stunden gesammelt, und es liegt die Vermuthung nahe, dass hierin die Fehlerquelle — abgesehen von den durch den Organismus nothwendig bedingten — für das Deficit zu suchen ist; auch sprechen die daselbst von Marchand angeführten Zahlen für meine Vermuthung. So nahm Marchand im Laufe von 10 Tagen 30.0 g Benzoësäure zu sich und schied 39.2 g Hippursäure aus, anstatt 44.01 g, die zu erwarten waren unter der Annahme, dass die Bildung der Hippursäure im Organismus nach der Gleichung

$$C_7H_6O_2 + C_2H_5NO_2 = C_9H_9NO_3 + H_2O$$

verläuft. Es wurde hier alle in den 10 Versuchstagen gebildete Hippursäure zur Bestimmung benutzt; dem entsprechend ist das Deficit hier auch viel kleiner ausgefallen, denn es beträgt nur 10.93 Proc., während es bei Meissner und Shepard 28.16 Proc. ausmacht. Will man aber die Weite der Fehlergrenzen bei solchen Bestimmungen berücksichtigen, so sind die Zahlen von Marchand ausreichend, um die Behauptung zu rechtfertigen, dass die Benzoësäure im Organismus weder zu Bernsteinsäure noch zu irgend einem weiteren Spaltungsproducte oxydirt werde.

Die Hippursäure ist ein constanter Bestandtheil des Harns, doch ist ihre Menge bei verschiedenen Thierclassen verschieden. Während sie im Harne der Kühe nach zwei quantitativen Versuchen Städeler's[1]) nahezu 1.5 Proc. beträgt, finden sich im Hundeharn nur Spuren. Die neueren Angaben über die Menge der täglich vom Menschen gebildeten Hippursäure fallen viel geringer aus, als es Hallwachs, Weissmann und Bödecker gefunden haben. Nach Bence Jones beträgt die tägliche Menge 0.25 bis 0.45 g. — Meissner und Shepard haben aus dem Harne von 24 Stunden bei kräftiger, jedoch nicht ausschliesslicher Fleischdiät nur 0.08 bis 0.1 g Hippursäure erhalten. Mit der Menge der normal ausgeschiedenen Säure scheint auch die nach Zufuhr von Benzoësäure vermehrte Hippursäureausscheidung in ziemlich einfachem Verhältnisse zu stehen. — Grosse Hunde scheiden schon nach Fütterung mit 1.0 g Benzoësäure neben Hippursäure auch unveränderte Benzoësäure aus. Die Angabe von Duchek, ein Mensch könne nicht mehr als 1.0 g Benzoësäure täglich in Hippursäure umwandeln, ist entschieden unrichtig und hat ihre hinlängliche Widerlegung in den oben citirten Zahlen von Meissner und Shepard gefunden. Bestimmungen, die ich am Menschen auszuführen Gelegenheit hatte, haben noch höhere Zahlen ergeben. Einem Manne, der auf der hiesigen medicinischen Klinik an Lungenemphysem behandelt wurde, sonst aber in gesundem Zustande sich befand, wurden 2 Tage hinter einander 15.0 g Natrum benzoicum

[1]) G. Städeler, Ann. d. Chem. u. Pharm. 77, 17.

pro die verordnet. Der von mir auf Hippursäure untersuchte Harn wurde jedesma frisch mit geringen Quantitäten Bleizuckerlösung versetzt, die in 24 Stunden ge lassene Menge filtrirt und auf dem Wasserbade abgedampft und der Rückstand mi Alkohol ausgezogen. Nach Verdunstung der alkoholischen Lösung wurde di Hippursäure mit verdünnter Schwefelsäure gefällt, auf dem Filter gesammelt und mi kaltem Wasser ausgewaschen. Die Krystalle unter dem Mikroskope bestanden nu aus rhombischen Prismen — eine für die Hippursäure sehr charakteristische Form. — Auch am zweiten Tage habe ich nur Hippursäure aus dem Harne erhalten. E wurde nun der Gebrauch von Natrum benzoicum einige Tage ausgesetzt, dan wurden 20.0 g pro die in kleinen Dosen verordnet. Es traten leichte Störunge des Wohlbefindens und Uebelkeit, jedoch ohne Erbrechen, ein. Die aus dem Harn nach gleichem Verfahren erhaltenen Krystalle bestanden zum grössten Theil au Hippursäure; jedoch waren daneben auch Blättchen und Schüppchen von Benzoë säure vorhanden. Ich halte bei der so verschiedenen Krystallform der beide Substanzen die mikroskopische Untersuchung für vollständig genügend; auch hatt jedesmal Herr Dr. Schultzen, der in Sachen der Hippursäure sehr competent ist die Güte, sich die Präparate anzusehen und meinen Befund zu bestätigen. Es lieg demnach für den vorliegenden Fall die Grenze für die Hippursäurebildung nach Zufuhr von 12 bis 16 g Benzoësäure innerhalb 24 Stunden.

Die Menge der nach Einnahme von Benzoësäure ausgeschiedenen Hippursäur ist ein Maass für die Menge des im Kreislaufe vorhandenen Glycocolls, der bei nich Vorhandensein des aromatischen Bestandtheils den Organismus als Harnstoff verlässt [1]) Hiermit stehen auch in Einklang die Angaben der verschiedenen Autoren, wonach sich die tägliche Ausscheidung des Harnstoffs und der Hippursäure gegenseitig bedingen.

Dass alle Versuche, die direct darauf gerichtet waren, die Abnahme der Harnstoffausscheidung nach Zufuhr von Benzoësäure zu beweisen, nicht zum Ziele führten ist leicht erklärlich aus der Schwierigkeit, den menschlichen Organismus längere Zeit wie dies z. B. bei Hunden leicht zu erreichen ist, im Stickstoffgleichgewicht zu erhalten, und aus dem verschiedenen N-gehalte der beiden Substanzen. Hunde sind wie ich mich überzeugt habe, für derartige Versuche wegen ihres geringen Vermögens Hippursäure zu bilden, und wegen des schädlichen Einflusses der Benzoësäure vollständig unbrauchbar. — Auch glaube ich, dass die Notiz von Roussin, wonach Arbeitspferde mehr Hippursäure bilden als ruhende Luxuspferde, eine nach dem oben Gesagten (abgesehen von der Verschiedenheit des Ernährungsmaterials) sehr einfache Erklärung zulässt. Ein Theil der während der Arbeit gebildeten Kohlensäure ist sicher auf Rechnung derjenigen kohlenstoffhaltigen Verbindungen zu bringen die die aromatische Gruppe enthalten; sie wird nun abgespalten, zu Benzoësäure oxydirt und als Hippursäure ausgeschieden. Die Stickstoffausscheidung bleibt sich dabei gleich, denn wo keine Paarung mit Benzoësäure stattfindet, verlässt das Glycin den Körper als Harnstoff.

[1]) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft zu Berlin **2**, 566.

Die grosse Verbreitung der aromatischen Körper im Pflanzenreiche, wo sie namentlich dem Pflanzenfresser als Nahrung dienen, lässt die Annahme berechtigt erscheinen, dass auch unter normalen Verhältnissen die Benzoësäure nicht die einzige aromatische Säure ist, an die das Glycocoll gebunden im Harne erscheint. Anhaltspunkte finde ich auch in den bekannten Untersuchungen Städeler's, der im Menschen-, hauptsächlich aber im Rinderharne neben Hippursäure noch andere flüchtige Verbindungen gefunden hat, die allem Anscheine nach in die Gruppe der aromatischen Substanzen gehören. Die von Städeler selbst ausgesprochene Vermuthung, dass die geringen Quantitäten von Phenol (Carbolsäure), die regelmässig im Harne vorkommen, auf die der Salicylsäure zugehörigen Verbindungen zurückzuführen wären, dürfte nach dem, was ich oben über Saligenin mitgetheilt habe, etwas zweifelhaft werden. Das Salicin zerfällt im Körper in Glucose und Saligenin, welches als Salicylursäure ausgeschieden wird. Dass ein Theil der Salicylursäure im Harne sich leicht in Glycocoll und Salicylsäure spaltet, welche letztere bei der Destillation mit Alkali in Phenol und Kohlensäure zerfällt, ist nicht zu bezweifeln. — Dies war jedoch nicht der Gang der Städeler'schen Untersuchung. — Dass die regelmässig im Harne vorkommende Hippursäure ihren Ursprung nicht aus dem Eiweiss der Nahrung nimmt, ist nach dem oben Gesagten klar; auch wird dies wohl von Wenigen bezweifelt. Meissner und Shepard in ihrer Untersuchung über den Ursprung der Hippursäure haben die grösste Ausscheidung derselben nach Fütterung mit Heu und Stroh gefunden, worauf sie die Cuticularsubstanz der Pflanzen, „die Rohfaser“, als diejenige bezeichneten, die zur Hippursäurebildung verwendet wird. Neuerdings hat J. Erdmann[1]) durch anhaltend langes Kochen des Tannenholzes mit sehr verdünnter Essigsäure, Extraction mit Wasser, Alkohol und Aether und Trocknen des Rückstandes einen Körper erhalten, den er Glycolignose nennt, und als dessen Formel durch Analyse (nach Abzug der geringen Menge Asche) $C_{30}H_{46}O_{21}$ gefunden wurde. Beim Kochen mit verdünnter Salzsäure zerfällt sie in Traubenzucker und 60 bis 65 Proc. Rückstand. Wurde die Glycolignose mit Kali geschmolzen bis zum Aufhören der Gasentwickelung, die Schmelze mit HCl übersättigt und das Filtrat mit Aether geschüttelt, so fanden sich in dem Aetherrückstande neben Essigsäure und Bernsteinsäure Krystalle, die grosse Uebereinstimmung mit dem Brenzcatechin und der Protocatechusäure zeigten. Aus Heu und Stroh, die anhaltend mit Essigsäure, Wasser, Alkohol und Aether ausgezogen worden waren, erhielt Erdmann beim Schmelzen mit Kali ebenfalls den Brenzcatechinkörper.

Wir haben schon oben gesehen, dass die Hippursäure von denjenigen aromatischen Verbindungen, die nur eine kohlenstoffhaltige Seitenkette im Molekül enthalten, stammen muss; andererseits hat Carius als das einzige aromatische Product bei der Oxydation der Benzoësäure die Phtalsäure gefunden. Es bleibt daher vorläufig unentschieden, inwiefern die im Thierkörper gebildete Hippursäure mit dem Brenzcatechinkörper im Zusammenhange steht. Sollten die weiteren Versuche Erdmann's diesen Zusammenhang erweisen, so würde damit die Frage nach der Entstehung der Hippursäure endgültig beantwortet sein. Man darf hoffen, dass dies nicht eine Sache der weiten Zukunft ist, und es wird dann die Kenntniss der Umsetzungen der aro-

[1]) Ann. Chem. Pharm. 1867, S. 223. Supplement-Band.

matischen Substanzen im Organismus zu den relativ bestbekannten Capitel physiologischen Chemie gehören.

---

Die im Vorstehenden angeführten Versuche habe ich in dem chemischen ratorium der hiesigen Anatomie angestellt, und es sei hiermit Herrn Gehe Reichert, der mir die Benutzung der nöthigen Apparate in liberalster Weise ges mein Dank ausgesprochen.

Berlin, im Juni 1870.

---

Verfasser, am 15. Januar 1847 auf dem Landgute seines Vaters, Boc jetzigen Gouvernement Kalisz in Polen, geboren, calvinischer Confession, be vom Jahre 1856 ab bis 1863 das philologische Gymnasium zu Piotrków in Po welchem Jahre er sich nach Krakau begab, um dort Philologie zu studiren. die damaligen Zustände im Lande jedoch daran verhindert, verliess er Oest und ging nach Jena, wo er, im April 1864 in die philosophische Facultät ins drei Semester Philosophie studirte. Im Herbst 1865 kam er nach Berlin, wo zum Sommer 1867 seine philosophischen Studien fortsetzte. In dieser Zeit zur cinischen Facultät übergegangen, absolvirte er im Januar 1869 das Tentamen ph und im Juli 1870 das Tentamen rigorosum. Während seiner Universitätszeit er folgende Lehrer: Nipperdey, Kuno Fischer, Fortlage, Göttling, A. Schmidt, M. Sc und Gädechens in Jena. In Berlin: Böckh, Trendelenburg, Haupt, Weber, Fried Steinthal; später: Braun, Schneider, Reichert, Dove, Magnus, du Bois-Rey Hartmann, Mitscherlich, Virchow, v. Langenbeck, Martin, Kristeller, Bard Frerichs.

---

Thesen.

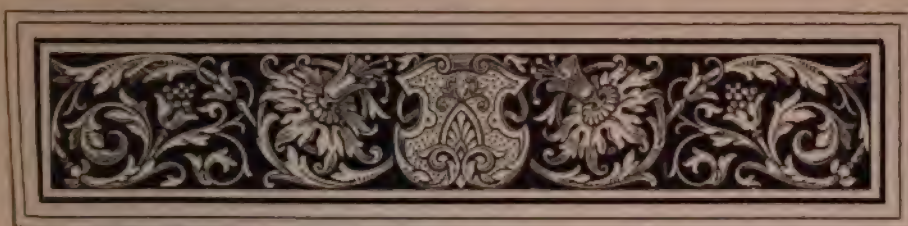
I.

Nach allen bis jetzt vorliegenden Versuchen ist anzunehmen, dass, wenn haupt, so nur in der Leber die Umwandlung des Blutfarbstoffes in den Gallenfa vor sich geht, und die Theorie des hämatogenen Icterus entbehrt einer thatsäch Grundlage.

II.

Es ist wohl anzunehmen, dass das normal in der Leber vorkommende Gl aus der als Nahrung zugeführten Stärke gebildet wird.

III.

Für die meisten gynäkologischen Operationen ist die Seitenlage der Rück vorzuziehen.

# 1871.

## Untersuchungen über die Harnsäuregruppe

von

**M. Nencki.**

### Erste Mittheilung.

Ber. 4, 722. (Vorgetragen vom Verfasser.)

Die Resultate der bisherigen Untersuchungen über die Harnsäure waren der Hauptsache nach analytisch. Synthesen sind bis jetzt nur wenig vorhanden. Während wir daher die Constitution der Harnsäurederivate mit 4 und 3 Atomen Kohlenstoff als festgestellt betrachten dürfen, ist die Constitution der Harnsäure selbst noch immer ein Gegenstand neuer Hypothesen.

In seiner bekannten Arbeit über die Harnsäure hatte A. Baeyer gerade diesen Punkt zum Gegenstande vieler Versuche gemacht, und es gelang Baeyer und Schlieper, durch directe Anlagerung der Cyansäure an die Amidogruppe des Uramils eine Harnstoffverbindung der Barbitursäure, die Pseudoharnsäure ($N_2C_4O_3H_3NH_2CNOH$), darzustellen. Alle Versuche, aus dieser Harnstoffverbindung die Cyanamidverbindung und dadurch einen mit der Harnsäure identischen oder isomeren Körper darzustellen, scheiterten indessen ebenso, wie es bis jetzt nicht möglich gewesen ist, den Harnstoff in Cyanamid überzuführen.

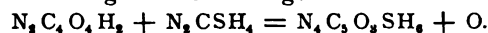
Die Ergebnisse der schönen Untersuchungen von A. W. Hofmann über die Senföle haben es nun wahrscheinlich gemacht, dass, falls es möglich wäre, Sulfoharnstoffe in die Harnsäurederivate mit 4 Atomen Kohlenstoff einzuführen, die Entschwefelung derselben und damit die Synthese der Harnsäure gelingen könnte.

Von diesen Gesichtspunkten ausgehend habe ich seit einiger Zeit die Harnsäuregruppe im Laboratorium des Herrn Professors A. Baeyer, dessen freundlicher Unter-

stützung ich sehr Vieles verdanke, zum Gegenstande meines Studiums gemacht und werde im Folgenden eine Reaction beschreiben, die zur Synthese einiger geschwefelter Harnsäuresubstanzen geführt hat, und deren weitere Verfolgung und Verallgemeinerung voraussichtlich Licht über dieses Capitel verbreiten wird.

Wird ein Gemisch von etwa 2 bis 3 g Schwefelharnstoff und der äquivalenten Menge Alloxan mit concentrirter alkoholischer Lösung von schwefliger Säure in zugeschmolzenem Rohr auf 100° C. im Wasserbade erhitzt, so vollzieht sich eine Reaction, deren Hauptproduct die Sulfopseudoharnsäure ist. Nach Verlauf von etwa fünf Stunden ist die Umsetzung vollendet. Beim Aufschmelzen des Rohrs entweicht neben schwefliger Säure auch Kohlensäure, während der feste Inhalt hauptsächlich aus der neuen Verbindung, vermengt mit Krystallen vom Schwefel, besteht. Die Reinigung der so erhaltenen Sulfopseudoharnsäure ist umständlich. Durch wiederholte Behandlung mit concentrirtem Ammoniak wird sie vom Uramil befreit. Auflösen in Natronlauge (unter Vermeidung jeder Erwärmung), Filtration und Fällung mit Salmiaklösung entfernen den Schwefel. Rein wird der Körper erhalten durch Aufkochen mit höchst concentrirter Salzäure oder besser mit Bromwasserstoffsäure, woraus er sich beim Erkalten in feinen concentrisch gruppirten Nadeln ausscheidet.

Die so gereinigte Substanz besitzt die Zusammensetzung $N_4 C_5 O_3 SH_6$ und entsteht wahrscheinlich nach folgender Gleichung:

$$N_2 C_4 O_4 H_2 + N_2 CSH_4 = N_4 C_5 O_3 SH_6 + O.$$

Die Sulfopseudoharnsäure ist in Wasser und Ammoniak unlöslich, schwer löslich in Salzsäure, leichter in Bromwasserstoffsäure und Schwefelsäure, sie wird durch Wasser daraus gefällt. Alle Versuche, ihr Schwefel zu entziehen, haben nicht das erwünschte Resultat gegeben. Sie löst sich leicht in den fixen Alkalien, namentlich in Natronlauge schon in der Kälte. Beim Erwärmen nimmt die Flüssigkeit eine gelbe Färbung an, und es bildet sich die Alkaliverbindung eines neuen Körpers, dessen Analysen Zahlen ergaben, die mit der Formel des wasserhaltigen Sulfoalloxantins oder auch der Sulfodialursäure übereinstimmen. (Als Mittel aus mehreren Analysen wurde gefunden C 25.8, H 3.4, N 15.0, S 17.4 Proc.; die Formel $C_8 N_4 S_2 O_7 H_8 + 2 OH_2$ verlangt: C 25.8, H 3.2, N 15.0, S 17.1 Proc. Die Formel der Sulfodialursäure $C_4 N_2 SO_3 H_4 + 1^1/_2 OH_2$ verlangt: C 25.6, H 3.6, N 14.9, S 17.1 Proc.) 'Die Zersetzbarkeit der Substanz beim Trocknen bietet Schwierigkeiten für die Krystallwasserbestimmung; jedoch hoffe ich bald ins Klare zu kommen.

Die Bildung des neuen Körpers findet jedenfalls unter Abspaltung des Harnstoffs und Aufnahme von Wasser statt und entspricht dem Zerfallen der Harnsäure in Dialursäure und Harnstoff bei der Behandlung mit verdünnter Salpetersäure.

Zur Darstellung der Sulfodialursäure (die ich vorläufig so nennen will) ist es nicht nöthig, die reine Sulfopseudoharnsäure in Arbeit zu nehmen. Der vom Schwefel befreite Röhreninhalt wird mit Natronlauge ausgekocht und durch Einleiten von Kohlensäure das Alkalisalz gefällt. Aus der stark verdünnten alkalischen Lösung fällt dann nach Zusatz von Salzsäure die neue Verbindung in seideglänzenden, mikroskopischen Tafeln, die Krystallwasser enthalten.

Salzsäure wirkt beim Erwärmen darauf ein, und unter Entwickelung von Schwefelwasserstoff entsteht ein neuer Körper, der bis jetzt nicht weiter untersucht

wurde. Dampft man auf einer Porcellanschale die Sulfodialursäure mit wenig Salpetersäure ein, so färbt sich die Flüssigkeit schön rosenroth; bei weiterem Eindampfen verschwindet die Färbung, und es hinterbleibt ein gelblicher Rückstand, der durch Ammoniak schön blau wird (violursaures Salz), durch Alkali aber violett.

Das Silbersalz der Sulfodialursäure ist ein dunkel violetter, amorpher Niederschlag. Wird dieser Niederschlag ausgewaschen und mit Wasser gekocht, so zersetzt sich das Salz, und unter Ausscheidung von Schwefelsilber entsteht Hydurilsäure. Ich habe das Studium der oben angedeuteten Reaction nicht weiter verfolgt, da die künstliche Darstellung der Harnsäure durch Entziehung von $SH_2$ aus der Sulfopseudoharnsäure meine Aufmerksamkeit wesentlich fesselte. Es sei daher gestattet, die nach dieser Richtung hin angestellten, wenn auch nicht vollendeten Versuche in aller Kürze zu erwähnen.

Wird die Sulfopseudoharnsäure mit dem doppelten Gewichte von concentrirter Schwefelsäure im Oelbade erhitzt, so findet schon bei 150° C. eine Entwickelung von schwefliger Säure statt. Man steigert allmählich die Temperatur auf 200° C., bis die Gasentwickelung nachgelassen hat. Der bräunlich gefärbte Inhalt wird durch Zusatz von Wasser gefällt, ausgewaschen und mit Ammoniak behandelt, wobei sich nahezu alles auflöst. Auf diese Weise wird das neue Product von der im Ammoniak unlöslichen Sulfopseudoharnsäure getrennt. Thierkohle entzieht der neuen Verbindung leicht den Farbstoff. Aus der ammoniakalischen Lösung wird sie dann durch Salzsäure in amorphen Flocken gefällt.

Die neue, noch schwefelhaltige Verbindung ist leicht löslich in Alkalien und Ammoniak, schwieriger in heisser Salzsäure. Aus dieser scheidet sie sich beim raschen Erkalten in Kugeln ab, bei langsamer Verdunstung bilden sich schöne mikroskopische Krystalle, die dem salzsauren Xanthin sehr ähnlich sind. Ueberhaupt besitzt dieser Körper grosse Aehnlichkeit mit dem Xanthin. So giebt er mit Ammoniak eine in Nadeln krystallisirende Verbindung, die jedoch schon durch Kohlensäure zersetzt wird. Beim Versetzen der ammoniakalischen Lösung mit Silbernitrat entsteht ein gelatinöser Niederschlag, und beim Eindampfen mit Salpetersäure erhält man nicht mehr die Murexid-, sondern genau die Xanthinreaction. Ein Unterschied aber besteht darin, dass der neue Körper von Salpetersäure unter lebhafter Gasentwickelung angegriffen wird, was bekanntlich beim Xanthin nicht der Fall ist. — Die Analyse der bei 100° C. getrockneten Substanz ergab folgende Zahlen: C 32.3, H 3.2, N 29.6 und 17.5 Proc. S. Die Formel $N_4C_5SO_2H_6$ verlangt C 32.2, H 3.2, N 30.0 und 17.2 Proc. S. Bei 180° C. getrocknet, verliert die Substanz noch Wasser, und es ist danach sehr wahrscheinlich, dass der Körper die dem Xanthin entsprechende Sulfoverbindung ist. Ich bin mit seiner Untersuchung beschäftigt.

Andererseits hoffe ich durch die Einführung von substituirten Sulfoharnstoffen in das Molekül des Alloxans und nachherige Entschwefelung zu Verbindungen zu gelangen, die nicht allein in chemischer, sondern auch in physiologischer Hinsicht interessant sein dürften.

3*

# 1872.

## Untersuchungen über die Harnsäuregruppe

von

**M. Nencki.**

### Zweite Mittheilung.

Ber. 5, 45. (Vorgetragen vom Verfasser.)

In einer früheren der Gesellschaft vorgelegten Arbeit [1]) habe ich die aus Alloxan und Sulfoharnstoff durch die Einwirkung der schwefligen Säure entstehende Sulfopseudoharnsäure beschrieben und auch bereits eines neuen Körpers gedacht, der durch die Einwirkung von concentrirter Schwefelsäure aus der Sulfopseudoharnsäure erhalten wurde. —

Bei der wiederholten Darstellung dieses Körpers in grösserer Menge hat es sich gezeigt, dass, um die grösste Ausbeute zu erzielen, die Temperatur des Oelbades nicht 160° C. übersteigen darf. In diesem Falle ist die Entwickelung der schwefligen Säure, die, wie ich jetzt gefunden habe, einer secundären Zersetzung angehört, sehr gering. Die durch Wasser gefällte Substanz wurde in Ammoniak aufgelöst, mit Salzsäure zersetzt und der ausgewaschene und getrocknete Niederschlag mit verdünnter Kali- oder Natronlauge gekocht; aus dem Filtrate scheidet sich dann beim Erkalten die Alkaliverbindung in schönen, weissen Nadeln aus, die Krystallwasser enthalten.

Die durch wiederholte Krystallisation des Kaliumsalzes gereinigte Substanz wurde mit Salzsäure zersetzt, bei 140° C. getrocknet und der Analyse unterworfen.

[1]) M. Nencki, Berichte 4, 722. — Dieser Band S. 33.

ch erhielt jetzt von den früheren ein wenig abweichende Zahlen, aus denen sich it guter Uebereinstimmung die Formel $N_4 C_5 S O_2 H_4$ berechnet.

| Es wurde gefunden: | Nach der obigen Formel berechnet: |
|---|---|
| C 32.78 und 32.78 Proc. | C 32.61 Proc. |
| H 2.66 „ 2.71 „ | H 2.17 „ |
| N 30.2 Proc. | N 30.4 „ |
| S 17.5 „ | S 17.4 „ |

Die Einwirkung von concentrirter Schwefelsäure auf die Sulfopseudoharnsäure besteht demnach in der Entziehung der Elemente des Wassers, und man könnte der Zusammensetzung nach diesen Körper als die geschwefelte Harnsäure betrachten; da er indessen in seinem Verhalten zur Harnsäure nicht gleich ist, so werde ich ihn „Urosulfinsäure“ nennen.

Wird das Erhitzen der Sulfopseudoharnsäure bei höherer Temperatur fortgesetzt, so entweicht schweflige Säure, die Ausbeute an Urosulfinsäure ist viel geringer, und aus der sauren Lauge scheidet sich beim Eindampfen ein neuer, schwefelhaltiger Körper aus, der wahrscheinlich ein Reductionsproduct der Urosulfinsäure ist.

Das schön krystallisirende Kaliumsalz erleichtert wesentlich die Darstellung der Urosulfinsäure, da die rohe, mit Uramil und Schwefel vermengte Sulfopseudoharnsäure der Einwirkung der Schwefelsäure unterworfen werden kann. Die anfangs stark roth gefärbte Substanz lässt sich durch wiederholte Krystallisation des in kaltem Wasser ziemlich schwer löslichen Kaliumsalzes mit Leichtigkeit in reinem Zustande erhalten.

Die so erhaltene Urosulfinsäure steht in ihrem chemischen Verhalten zwischen der Harnsäure und dem Xanthin. Sie ist eine schwache, einbasische Säure; auch aus stark alkalischen Lösungen im Vacuum konnte keine Verbindung mit zwei Atomen Alkalimetall erhalten werden, hingegen fällt Kohlensäure aus der alkalischen Lösung die freie Säure in den ihr charakteristischen Kugeln.

Die Metalloxyde für sich oder in Gegenwart von Ammoniak sind nicht im Stande, der Verbindung Schwefel zu entziehen, weder bei der Siedehitze des Wassers noch bei höheren Temperaturen. Wurde das Quecksilber oder Bleisalz der Urosulfinsäure im Phenol oder Anilin suspendirt und gekocht, so konnte daraus die unveränderte Substanz wieder erhalten werden — dasselbe fand auch statt beim Kochen dieser Salze mit Glycerin —; beim längeren Kochen tritt jedoch eine vollständige Zersetzung ein und aus der alkalischen Lösung wird dann durch Salzsäure keine Urosulfinsäure mehr gefällt.

Durch Natriumamalgam wurde aus der Urosulfinsäure eine in seideglänzenden Nadeln krystallisirende, in heissem Wasser leicht lösliche, schwefelhaltige Verbindung erhalten, die sich jedoch den schwefelentziehenden Agentien gegenüber als beständig erwies.

Mit Wasser fünf Stunden auf 200° C. erhitzt, wird die Urosulfinsäure nicht verändert, ebenso wenig mit wässerigem Ammoniak; erst bei länger fortgesetztem Erhitzen findet eine vollständige Zersetzung statt. —

Auch das von Herrn A. W. Hofmann als Entschwefelungsmittel mit Erfolg angewandte Jod[1]) war hier ohne Einwirkung.

Es ist daher nicht wahrscheinlich, dass die Entschwefelung der Urosulfinsäure ohne eine weitere Zerstörung des Moleküls möglich wäre. In der Absicht, mit der Reduction die Entschwefelung zu verbinden, wurden Alloxan und die Silberverbindung des Sulfoharnstoffes mit alkoholischer, schwefliger Säure behandelt. Die Reaction verlief indessen nicht in dem gewünschten Sinne. Es bildete sich die Silberverbindung eines in Wasser leicht löslichen Körpers, der daraus durch Alkohol in amorphen Flocken abgeschieden werden konnte.

Man ersieht aus dem bisher Mitgetheilten, dass die geschwefelten Derivate der Harnsäure ebenso zahlreich und mannigfaltig in ihren Spaltungsproducten sind wie die Harnsäure selbst. Es ist aber nicht gut möglich, aus den bisherigen Resultaten mit Bestimmtheit die Constitution dieser Körper anzugeben oder etwa Folgerungen über die Constitution der Harnsäure selbst zu ziehen, denn gerade der Umstand, dass man auf verschiedenen Wegen leicht die Derivate derselben erhalten kann, bedingt es, dass die Constitutionsformeln der Harnsäure, so lange sie selbst nicht synthetisch erhalten wurde, immer nur auf hypothetischen Annahmen beruhen.

---

# Untersuchungen über die Harnsäuregruppe

von

**M. Nencki.**

## Dritte Mittheilung.

Ber. 5, 886. (Vorgetragen von Herrn Liebermann.)

Bei der Beschreibung der aus der Sulfopseudoharnsäure erhaltenen Urosulfinsäure habe ich bereits bemerkt, dass alle Versuche, ihr Schwefel zu entziehen und so zu einem der Harnsäure isomeren Körper zu gelangen, erfolglos blieben; auch zeigte das chemische Verhalten der Urosulfinsäure, dass sie jedenfalls nicht als die der Harnsäure entsprechende Sulfoverbindung betrachtet werden kann. Sie ist eine sehr schwache einbasische Säure und wird aus ihren Salzen schon durch die Kohlensäure frei abgeschieden. Ein weiterer Unterschied besteht darin, dass sie von concentrirter Salpetersäure nur schwer angegriffen wird und sich zu einem amorphen in Wasser unlöslichen Körper oxydirt, dessen geringe Ausbeute für eine weitere Untersuchung nicht gerade geeignet war. Die Sulfopseudoharnsäure wird bei gleicher Behandlung zu dilitursaurem Ammon umgewandelt. Meine Aufmerksamkeit wurde aber alsbald diesem Körper entzogen durch eine Reaction, die mich zu einer Reihe neuer Verbindungen geführt hat, und deren weitere Verfolgung in mancher Hinsicht ein allgemeineres Interesse beanspruchen kann.

[1]) A. W. Hofmann, Berichte 2, 452.

Wird durch eine warmgehaltene wässerige Lösung von Barbitursäure Cyangas durchgeleitet, so nimmt die Flüssigkeit eine rothe Farbe an, die mit der Zeit an Schönheit und Intensität bedeutend zunimmt. Alsbald setzt sich ein feiner krystallinischer Niederschlag eines neuen Körpers zu Boden, den ich Cyanmalonylharnstoff nennen will. Wird das Cyan durch eine Reihe von Kolben (drei bis vier) geleitet, so ist die Absorption des Gases eine vollständige und die Ausbeute an Cyanmalonylharnstoff eine nahezu theoretische. Findet keine Absorption mehr statt, so wird der Niederschlag abfiltrirt und durch Auskochen mit siedendem Wasser von der rothen Färbung befreit. Die so erhaltene Substanz enthält noch ein Molekül Krystallwasser, das sie erst bei 140° C. vollständig verliert, und besitzt dann constant die Zusammensetzung $C_6H_4N_4O_3$. —

1. 0.2651 der Substanz gaben 0.3868 $CO_2$ und 0.0618 $H_2O$
2. 0.2633 „ „ „ 0.3844 $CO_2$ „ 0.0534 $H_2O$
3. 0.1315 „ „ „ 37.5 ccm N bei 14° und 713 mm Barometer.

| Versuch | | | Theorie | |
|---|---|---|---|---|
| C | 39.77 Proc. und | 39.80 | $C_6$ | 40.00 Proc. |
| H | 2.51 „ „ | 2.25 | $H_4$ | 2.22 „ |
| N | 31.45 „ | | $N_4$ | 31.11 „ |
| | | | $O_3$ | 26.67 „ |

Die Entstehung dieses Körpers beruht demnach auf einer einfachen Addition des Cyans mit der Barbitursäure

$$C_4H_4N_2O_3 + C_2N_2 = C_6H_4N_4O_3.$$

Der Cyanmalonylharnstoff wird durch Kochen mit $OH_2$ nicht zersetzt.

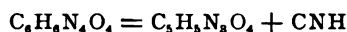
Trocken erhitzt, bräunt er sich erst bei 240° C. und liefert ein geringes Sublimat, während der grösste Theil verkohlt. Concentrirte Schwefelsäure wirkt schon bei 100° C. darauf ein und liefert unter starker Kohlensäureentwickelung mehrere neue Producte.

Von concentrirter Salpetersäure wird er nur schwer gelöst. Beim Auflösen in kalter Kalilauge geht er unter Aufnahme von Wasser in das in Nadeln krystallisirende Kalisalz einer neuen Säure, der Cyanuromalsäure, über, welches die Zusammensetzung $C_6H_5KN_4O_4$ besitzt. — Bei dem Versuche, aus der alkalischen Lösung die freie Säure durch Salzsäure abzuscheiden, verbreitete die Flüssigkeit einen intensiven Geruch nach Blausäure, und da hier augenscheinlich eine theilweise Zersetzung stattgefunden hatte, wurde die Analyse des bei 110° C. getrockneten Kaliumsalzes ausgeführt.

1. 0.3078 der Substanz gaben 0,3082 $CO_2$ . 0,0634 $H_2O$ und 0.0916 $CO_3K_2$
2. 0.2096 „ „ „ 44 ccm N bei 16° und 725 mm Barometer
3. 0.2573 „ „ „ 0.0956 $SO_4K_2$.

| Versuche | | | Theorie | |
|---|---|---|---|---|
| C | 29.88 Proc. | | $C_5$ | 30.49 Proc. |
| H | 2.25 „ | | $H_5$ | 2.12 „ |
| N | 23.69 „ | | $N_4$ | 23.71 „ |
| K | 16.83 „ | und 16.66 | K | 16.56 „ |
| | | | $O_4$ | 27.12 „ |

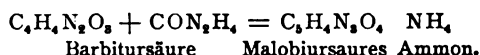
Die freie Cyanuromalsäure ist in Wasser schwer löslich und scheidet sicl der alkalischen Lösung nach Zusatz einer stärkeren Säure in kleinen Drusen die aus mikroskopischen, concentrisch gruppirten Nadeln bestehen. Durch Ein von Kohlensäure in die alkalische Lösung wird das cyanuromalsaure Kalisalz g es entsteht jedoch dabei ein anderer in heissem Wasser leicht löslicher Körper ich in einer späteren Mittheilung beschreiben will. Die Cyanuromalsäure ist unbeständig und zersetzt sich an der Luft unter Freiwerden von Blausäure; auf d Umstande beruht es, dass ich bei der Analyse der freien Säure nicht ganz üb stimmende Zahlen erhalten konnte. (So ergab die bei 110° C. getrocknete 35.72 C und 3.17 H. Die Formel $C_6H_6N_4O_4$ verlangt 36.36 C und 3.03 H.) freiwillige Zersetzung kann leicht durch wiederholtes Auflösen in Kalilauge Fällen mit Salzsäure oder auch durch Kochen mit der letzteren beendigt we Das hierbei neu entstehende Product ist eine einbasische, in Nadeln krystallisi Säure, deren Entstehung aus der vorigen die Gleichung:

$$C_6H_6N_4O_4 = C_5H_5N_3O_4 + CNH$$

veranschaulicht. —

1. 0.3239 der Substanz gaben 0.4163 $CO_2$ und 0.0898 $H_2O$
2. 0.1838 „ „ „ 40.5 ccm N bei 14° und 725 mm Barometer.

| Versuche | Theorie |
|---|---|
| C 35.04 Proc. | $C_5$ 35.08 Proc. |
| H 3.05 „ | $H_5$ 2.92 „ |
| N 24.66 „ | $N_3$ 24.56 „ |
| | $O_4$ 37.44 „ |

Die Säure, der diese Zusammensetzung zukommt, ist nun in der Literatu Harnsäuregruppe bereits bekannt. Baeyer (Ann. Chem. Pharm. **135**, 312) e durch längeres Erhitzen von Barbitursäure mit dem mehrfachen Gewicht Har auf 150 bis 170° C. das Ammoniaksalz der Malobiursäure:

$$\underset{\text{Barbitursäure}}{C_4H_4N_2O_3} + CON_2H_4 = \underset{\text{Malobiursaures Ammon.}}{C_5H_4N_3O_4\ NH_4}$$

Da nun die Barbitursäure selbst ein Malonylharnstoff ist und die Entstehun Malobiursäure durchaus der Bildung des Biurets beim Erhitzen des Harnstoffes fü entspricht, so ist nach Baeyer die Malobiursäure nichts anderes als Malonylb

$$\underset{\text{Biuret}}{N_3\begin{cases}(CO)_2\\H_5\end{cases}} \qquad \underset{\text{Malobiursäure}}{N_3\begin{cases}(CO)_2\\C_3H_2O_2\\H_3\end{cases}}$$

Sowohl der empirischen Zusammensetzung als auch der Entstehung nac sie offenbar auf einer Addition von Cyansäure zu Barbitursäure beruht, war e wahrscheinlich, dass die von mir aus der Cyanuromalsäure erhaltene Verbi mit der Malobiursäure identisch sei. Das charakteristische Verhalten der Mal säure gegen Brom und Salpetersäure machte es auch leicht, die Identität der t Säuren festzustellen. Wird die von mir erhaltene Säure in Wasser suspendi allmählich unter Umschütteln Brom zugesetzt, so verschwindet das Brom, un Säure geht alsbald in Lösung über. Beim Einengen der Lösung etwa auf die

des Volumens krystallisirt dann beim Erkalten das Alloxanbromid, das durch alle Reactionen als solches nachgewiesen werden konnte. Zum Ueberfluss wurde noch die Elementaranalyse ausgeführt:

1. 0.2862 der Substanz gaben 0.1786 $CO_2$ und 0.0276 $H_2O$
2. 0.2186 „ „ „ 0.2860 BrAg
3. 0.4102 „ „ „ 37 ccm N bei 17° und 718 mm Barometer.

| Versuch | | Theorie | |
|---|---|---|---|
| C | 16.98 Proc. | $C_4$ | 16.78 Proc. |
| H | 1.06 „ | $H_2$ | 0.69 „ |
| Br | 55.70 „ | $Br_2$ | 55.94 „ |
| N | 9.84 „ | $N_2$ | 9.79 „ |
| | | $O_2$ | 11.80 „ |

Beim Kochen mit concentrirter Salpetersäure wird sie genau wie die von Baeyer beschriebene Malobiursäure unter Abspaltung der Cyansäure zu Dilitursäure (Nitromalonylharnstoff) umgewandelt. —

Zu bemerken ist nur, dass, während Baeyer die freie Säure als körnigen Niederschlag beschreibt, ich die Malobiursäure nach achtmaligem Umkrystallisiren in schönen atlasglänzenden Nadeln erhalten konnte; auch das Ammoniaksalz lässt sich durch wiederholtes Reinigen krystallinisch erhalten. — Das Kalisalz, das in kaltem Wasser ziemlich schwer, in heissem (in sechs Theilen) leichter löslich ist, scheidet sich beim Erkalten der heissen Lösung in langen Nadeln aus, die, unter dem Exsiccator getrocknet, die Zusammensetzung: $C_5H_4KN_3O_4 + H_2O$ besitzen. — Das Natronsalz verhält sich ähnlich.

---

# Die Oxydation des Camphercymols im Thierkörper

von

**M. Nencki** und **E. Ziegler.**

Ber. 5, 749. (Vorgetragen von Herrn Liebermann)

In einer in Reichert's und du Bois-Reymond's Archiv [1]) bereits vor zwei Jahren gedruckten Arbeit hat der Eine von uns das bemerkenswerthe Verhalten der aromatischen Verbindungen im Thierleibe hervorgehoben. Man konnte nämlich auf Grund der bis dahin vorhandenen Versuche die Thatsache constatiren, dass in den aromatischen Kohlenwasserstoffen, Alkoholen und Säuren nur eine kohlenstoffhaltige Seitenkette in Carboxyl oxydirt wird, während der Benzolkern im Organismus der Oxydation vollständig zu entgehen scheint. Wir wollen in Folgendem einen von uns ausgeführten Versuch mittheilen, der wenigstens in diesem Punkte mit den bisherigen Beobachtungen in vollem Einklange steht.

Von den aromatischen Kohlenwasserstoffen, die kohlenstoffhaltige Seitenketten enthalten, sind bis jetzt nur zwei einem exacten Versuche unterworfen worden: 1. das

[1]) M. Nencki: Die Oxydation der aromatischen Verbindungen im Thierkörper. Archiv vom Jahre 1870, S. 399. — Dieser Band S. 17.

Toluol, welches im Organismus zu Benzoesäure, und 2. das Xylol, welches zu Tolu säure oxydirt wird. Um diese Thatsachen zu vervollständigen und die etwa v handene Gesetzmässigkeit zu constatiren, haben wir mit dem Camphercyı Fütterungsversuche sowohl am Menschen als auch an Hunden angestellt. — I käuflich von Herrn Marquardt in Bonn unter dem Namen Cymol e Campho Siedep. 174°, aufgeführte Präparat wurde nach dem von Linnemann empfohleı Verfahren der fractionirten Destillation unterworfen. Der grösste Theil des Kohl wasserstoffes ging dabei zwischen 165 bis 170° über. Er bestand demnach aus ein Gemenge von Pseudocumol und Cymol. — Nach Fittig siedet das reine Pseudocuı bei 166°. — Es gelang uns nur, einen kleinen Theil des Präparates (etwa den fü ten) von constantem Siedepunkte 173° bei 720 mm Barometerstand zu isoliı dessen Analyse gut mit der Formel des Cymols übereinstimmte.

So gaben 0.0928 der Substanz 0.3042 $CO_2$ und 0.0884 $H_2O$.

| Versuch | Theorie |
|---|---|
| C 89.40 Proc. | $C_{10}$ 89.55 Proc. |
| H 10.58 „ | $H_{14}$ 10.45 „ |

Bei der Oxydation unseres Cymols mit chromsaurem Kalium und Schwefelsäı erhielten wir hauptsächlich Terephtalsäure, daneben aber auch in kleinen Quantitäı Toluylsäure; eine Beobachtung, die bereits von Kekulé und Dittmar[1]) gema wurde. —

Die Fütterungsversuche wurden zuerst an Hunden, später am Menschen u zwar mit gleichem Resultate angestellt. Dosen von 3 g pro die konnten ol Nachtheil vertragen werden. Der nach Aufnahme von Cymol gelassene Harn wu mit kleinen, zur vollständigen Fällung ungenügenden Quantitäten basischen Bl acetats versetzt, wodurch mit den Phosphaten auch ein grosser Theil des Pigmen sich entfernen liess. Der abfiltrirte und zum Syrup eingedampfte Harn wurde ı Alkohol gefällt, das Filtrat verdunstet, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert u mit Aether geschüttelt. Der abdestillirte Aether hinterlässt ein braunes Oel v eigenthümlich widrigem Geruche und saurer Reaction, das in diesem Zustande nach wochenlangem Stehen krystallinisch erstarrt. Die Reinigung der Säure schieht am besten durch Auskochen des Oeles mit Baryumcarbonat unter Zus von Thierkohle und Versetzen des Filtrates mit Salzsäure, wodurch ein Filz v Krystallen, die aus feinen rhombischen Säulen bestehen, gefällt wird. — Du wiederholtes Umkrystallisiren aus siedendem Wasser, worin die Säure reichlich l lich ist, kann sie alsbald völlig rein in kleinen weissen Nadeln erhalten werden.

Die Analysen der freien Säure und des Silbersalzes ergaben Zahlen, welche der Formel $C_{10}H_{12}O_2$ gut übereinstimmen. —

0.1818 der im Vacuum getrockneten Substanz gaben 0.5006 $CO_2$ u 0.1264 $H_2O$.

| Versuch | Theorie |
|---|---|
| C 73.07 Proc. | $C_{10}$ 73.17 Proc. |
| H 7.51 „ | $H_{12}$ 7.31 „ |
| | $O_2$ 19.51 „ |

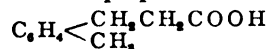
[1]) Ann. Chem. Pharm. **162**, 340.

0.105 des bei 130° getrockneten Silbersalzes enthielten 0.0416 g Ag oder 39.62 Proc. Die Formel $C_{10} H_{11} Ag O_2$ verlangt 39.85 Proc. Ag.

Die Säure ist leicht flüchtig und unzersetzt sublimirbar. Sie schmilzt bei 115° und erstarrt bei 109° wieder. In Alkohol, Aether und Eisessig ist sie leicht löslich und wird durch Zusatz von Wasser aus letzterem Lösungsmittel gefällt, sie ist sehr wenig in kaltem und viel leichter in heissem Wasser löslich. In nicht ganz reinem Zustande schmilzt sie auf dem Wasser zu Oeltropfen, bevor sie sich darin auflöst. Beim trockenen Erhitzen ihrer Salze entweicht ein Kohlenwasserstoff von eigenthümlichem, dem Kümmelöl ähnlichem Geruch.

Im Organismus scheint sie mit dem Glycocoll keine Verbindung einzugehen; es ist uns wenigstens trotz aller Sorgfalt nicht gelungen, eine stickstoffhaltige Säure zu erhalten. —

In Bezug auf ihre Constitution kann man nur zwei Annahmen berücksichtigen und sie entweder als $C_6 H_4 {<}^{C_3 H_7}_{COOH}$, also die der Terephtalsäurereihe entsprechende Propylbenzoësäure, oder als die Toluolpropionsäure auffassen.

$$C_6 H_4 {<}^{CH_2 CH_2 COOH}_{CH_3}$$

Die physikalischen Eigenschaften dieser aus dem Harn erhaltenen Säure stimmen indessen so sehr mit denen der aus Cuminaldehyd von Gerhardt und Cahours erhaltenen Cuminsäure überein, dass an der Identität beider ein Zweifel kaum bestehen kann.

Laboratorium für medicinische Chemie in Bern.

---

# Die Wasserentziehung im Thierkörper

von

**M. Nencki.**

Ber. 5, 890. (Vorgetragen von Herrn Liebermann.)

Man hat, gestützt auf die von Voit ermittelte Thatsache des Stickstoffgleichgewichtes, wonach nahezu der sämmtliche N der Nahrung den Organismus als Harnstoff verlässt, voreilig den Thierkörper als ausschliesslich oxydirendes Agens aufgefasst und daraus Schlussfolgerungen gezogen, wie z. B. die Berechnungen über die vom Thierkörper gelieferte Verbrennungswärme, die, falls diese Auffassung desselben im Gegensatz zu dem reducirenden Pflanzenkörper nicht ganz richtig ist, keineswegs Anspruch auf Genauigkeit machen können. Dass die von Frankland ermittelten Verbrennungswärmen der Nahrungsstoffe wohl brauchbar sind zur Bemessung des Werthes, der ihnen als Material zur Verbrennung unter einem Dampfkessel zukommt, aber als Ausdruck für ihren Wärmewerth im lebendigen Körper keine besondere Bedeutung haben können, ist neulich von Liebig bemerkt worden (Ann. der Chem. und Pharm. **153**, 173). Die seither gemachten Beobachtungen haben auch factisch erwiesen, dass im Thierkörper chemische Processe, die

wir gewissermaassen als der Oxydation entgegengesetzt zu betrachten gewc sind, daneben bestehen und bei dergleichen Berechnungen jedenfalls berücksicl werden müssen. So beruht z. B. die Bildung der Benzoësäure aus Chinasäure Organismus auf einer Reduction; ebenso die kürzlich von Maly erwiesene Umwa lung des Bilirubins in den Harnfarbstoff. —

Baeyer hat in einer in diesen Berichten (3, 63) veröffentlichten Arbeit die n lichen Fälle der Wasserentziehung an den aus C, H und O bestehenden Verbindunge Betracht gezogen und daraus die beiden nach der Wasserentziehung stattfinder Reactionen, nämlich: 1. die Anhydridbildung, und 2. die Condensation, abgele

Die von Baeyer hervorgehobene Bedeutung dieses Processes im Pflanzenle hat durch die kürzlich von ihm beschriebene neue Classe von Farbstoffen, die den natürlich vorkommenden die grösste Aehnlichkeit zeigen, eine neue Bestätig gefunden. —

Ich will im Folgenden die auf die Wasserentziehung im Thierkörper bez lichen Thatsachen zusammenstellen, da gerade in der letzten Zeit neue Beobachtun hinzugekommen sind und die genaue Kenntniss dieses Vorganges im Thierleibe das Verständniss der thierischen Stoffmetamorphose jedenfalls von hoher Bedeut sein muss. —

Während der N mit dem C in den als Nahrung zugeführten Albumina höchst wahrscheinlich nur mit einer Affinität gebunden ist und jedenfalls in de nächsten Spaltungsproducten und zugleich Vorstufen des Harnstoffs (Leucin, C cocoll) nur in dieser Form vorkommt, begegnen wir zum öfteren Verbindun im Thierkörper, deren Entstehung im Organismus auf Wasseraustritt beruht, unc denen der N meistentheils als C—·—N—·—C, aber auch als C⋮⋮≡N an C gebunden ist. Die hier nach dem Wasseraustritt erfolgende doppelte oder a dreifache Bindung des N an den C (die Amid- und die Nitrilbildung) kann ana der Reaction, die an den aus C, H und O bestehenden Verbindungen eintritt, Condensation aufgefasst werden. So beruht die Bildung der Hippursäure (also ei secundären Amidosäure) und anderer aromatischer Glycocollverbindungen im Orga mus auf Wasserabgabe. Nach dem Wasseraustritt wird nun der N mit zwei Affinitä an den C gebunden, analog der äusseren Condensation an den aus C, H unc bestehenden Verbindungen:

$$C_6H_5\text{--}CO\text{--}OH + {}^{H}_{H}{>}N\text{--}CH_2\text{--}COOH - OH_2$$

Benzoësäure + Glycocoll

$$= C_6H_5\text{--}CO\text{--}\underset{\vdots\atop H}{N}\text{--}CH_2\text{--}COOH$$

Hippursäure.

Auf demselben Vorgange beruht die Bildung der beiden gepaarten Gallensä im Organismus: der Glyco- und der Taurocholsäure, z. B.

$$C_{23}H_{39}O_3\text{--}CO.OH + {}^{H}_{H}{>}N\text{--}CH_2\text{--}COOH - OH_2$$

Cholalsäure + Glycocoll

$$= C_{26}H_{43}NO_6$$

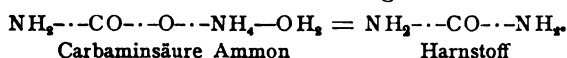
Glycocholsäure.

Die Wasserentziehung an stickstofffreien Verbindungen ist bis jetzt nur in einem Falle, mit einer Anhydridbildung, bekannt. Es ist dies die Umwandlung des Traubenzuckers in Glycogen. Nach Versuchen, die Herr Dr. Schöpfer[1]) im hiesigen Laboratorium angestellt hat, und die in ausgezeichneter Weise die früheren Experimente Cl. Bernard's bestätigt haben, werden 15 Proc. Traubenzuckerlösungen, in die Aeste der Pfortader injicirt, in der Leber vollständig zurückgehalten. Spritzt man hingegen dieselbe Lösung in eine Körpervene, so erscheinen zwei Drittel des eingespritzten Zuckers im Harne wieder. Herr Schöpfer konnte auf Grund seiner Experimente berechnen, dass die Leber eines mittelgrossen Kaninchens in einer Minute etwa 0,12 g Zucker zu verarbeiten im Stande ist. Man wird wohl kaum annehmen können, dass der Zucker nicht als Glycogen zurückgehalten werde, da nach Fütterung mit Zuckerstoffen das Pfortaderblut stets zuckerhaltig ist, wie ich dies öfters zu beobachten Gelegenheit hatte, und zugleich eine massenhafte Production von Glycogen in der Leber stattfindet. Die Entstehung des Cholesterins des Wachses und der Fette aus den Kohlehydraten im Thierleibe, wofür in der letzten Zeit wieder neue Beweise beigebracht wurden, kann nicht anders als vielleicht neben theilweiser Oxydation auf O-Austritt in Form von $OH_2$ beruhend gedacht werden. —

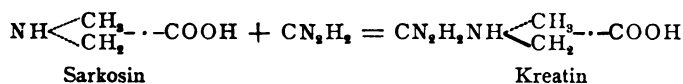
Am häufigsten begegnen wir der Wasserentziehung im thierischen Stoffwechsel bei den letzten Gliedern der sogenannten regressiven Metamorphose, vielleicht nur deshalb, weil die Constitution der hierher gehörenden Substanzen relativ am besten erforscht ist. Der N der Nahrungsstoffe wird hauptsächlich als Harnstoff, dann als Kreatin, Harnsäure, Xanthin, Guanin und andere in die Gruppe der Harnsäure gehörende Substanzen ausgeschieden. Die Entstehung dieser sämmtlichen amidartigen Körper beruht auf Wasseraustritt, wie dies bereits durch die allgemeine Bildungsgleichung ausgedrückt wird:

$$mCO + nCO_2 + oNH_3 - pH_2O.$$

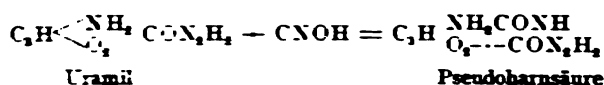
In Bezug auf die Entstehung des Harnstoffs im Thierkörper hat die letzthin publicirte Arbeit von Schultzen ein klares Licht geworfen.

$$\underset{\text{Carbaminsäure Ammon}}{NH_2\text{---}CO\text{---}O\text{---}NH_4} - OH_2 = \underset{\text{Harnstoff}}{NH_2\text{---}CO\text{---}NH_2}.$$

Man ersieht auch, dass die Bestrebungen, aus den Eiweissstoffen durch directe Oxydation Harnstoff zu erhalten, physiologisch eigentlich keinen Sinn haben, da seine Entstehung im Thierkörper auf ganz anderen Processen beruht. —

Beim Kreatin ist die Wasserentziehung bis zur Cyanamidbildung (Nitril der Carbaminsäure) vorgeschritten, wie dies die Synthese des Kreatins von Volhard beweist. Es lagert sich hier einfach das Cyanamid an das Sarkosin, ähnlich wie das Cyan an die Barbitursäure, oder die Cyansäure an die Amidogruppen des Uramils bei der Bildung der Pseudoharnsäure.

$$\underset{\text{Sarkosin}}{NH\left\langle\begin{matrix}CH_3\\CH_2\end{matrix}\right.\text{---}COOH} + CN_2H_2 = \underset{\text{Kreatin}}{CN_2H_2NH\left\langle\begin{matrix}CH_3\\CH_2\end{matrix}\right.\text{---}COOH}$$

[1]) Beiträge zur Kenntniss der Glycogenbildung in der Leber, von Dr. E. Schöpfer, Inaugural-Dissertation. Bern, 1872. — Dieser Band S. 46.

$$C_3H\langle^{NH_2}_{O_2} CON_2H_2 - CNOH = C_3H \begin{matrix} NH_2CONH \\ O_2 - - CON_2H_2 \end{matrix}$$

Uramil                    Pseudoharnsäure

Nichts hindert, anzunehmen, dass ähnlich wie bei der künstlichen Darstellung die Entstehung des Kreatins im Organismus durch eine Vereinigung von Cyanamid mit Sarkosin stattfindet. Nach den Versuchen von Schultzen verbindet sich das gefütterte Sarkosin unter Austritt von $OH_2$ mit den Elementen der Carbaminsäure. Dass hier das Sarkosin nicht als Kreatin ausgeschieden wird, hat seinen Grund wohl in der grossen Anhäufung des ersteren im Organismus — die tägliche Ausscheidung des aus dem Kreatin im Harne entstehenden Kreatinins beträgt beim Menschen nur 0.6 bis 1.3 g. Es ist aber sehr wohl denkbar, dass unter normalen Verhältnissen ein geringer Theil des Harnstoffes nur in gewissen Theilen des Organismus noch ein Molekül $H_2O$ abgiebt und das so entstandene Cyanamid sich mit Sarkosin zu Kreatin vereinigt. Der Schultzen'sche Körper ist nicht der einzige, der nach Fütterung mit Sarkosin statt des Harnstoffs im Harne auftritt, und es wird von hohem Interesse sein, zu erfahren, wie sich bei Sarkosinfütterung die Kreatin- respective Kreatinin-Ausscheidung verhält. —

Auf ähnlichem Processe beruht wohl auch die Bildung der Harnsäure, des Xanthins und Sarkins im Thierkörper. Wenigstens setzen die beiden wahrscheinlichsten Constitutionsformeln der Harnsäure die Cyanamidgruppe darin voraus und gerade in dem Nachweise der Wasserentziehung bei der Bildung dieser Körper im Organismus liegt das Hauptinteresse für die künstliche Darstellung derselben. Man darf nun auch hoffen, dass die Bemühungen so vieler Chemiker in dieser Hinsicht nicht lange erfolglos sein können. —

Laboratorium für medicinische Chemie in Bern.

---

# Beiträge zur Glycogenbildung in der Leber

von

**E. Schöpfer.**

Referat aus Maly's Jahrb. **2**. 254 [1]).
Da Prof. M. Nencki in der vorangehenden Arbeit sich auf die Untersuchungen von Dr. E. Schöpfer bezieht, scheint es uns passend, seine Arbeit als Referat an dieser Stelle einzufügen. H.

Tscherinow's Versuche zeigten, dass Fütterung mit Zucker Glycogenanhäufung in der Leber zur Folge hat, und Bernard giebt an, dass Zuckerlösung, in einen Zweig der V. post. injicirt, keinen Zuckergehalt im Harne bewirkt, während dies der Fall ist, wenn die Zuckerlösung in eine Vene gelangt. Verf. hat auf Veranlassung von Naunyn wegen der Wichtigkeit dieser Versuche die Bernard'schen wiederholt.

Es wurden stets gesunde Kaninchen von circa 1.28 kg Gewicht gewählt und als Injectionsflüssigkeit eine 15 procentige Traubenzuckerlösung genommen. Zur Injection diente eine graduirte Kittel'sche Spritze mit scharfer Canüle.

---

[1]) Inaugur.-Dissertation der med. Facult. in Bern vorgelegt. Berne imp. de C. J. Wyss 1872 (Ref. verdankt diese Dissert. Hern Prof. Nencki).

ı je zwei comparativen Versuchen diente dasselbe Thier unter völlig gleichen tnissen. Es wurde ätherificirt, die Vene wurde blossgelegt, die scharfe nspritze eingeführt und nun nach Minutenangabe eines Assistenten die lösung gleichmässig injicirt. Zur ersten Injection diente meist die V. crural, 'eiten (meist am nächsten Tage) ein Ast der V. mesenterica von gleicher wie die crur.

'ird die Zuckerlösung in das Pfortadersystem zu schnell eingetrieben, so ist ›er nicht im Stande, allen zugeführten Zucker fest zu halten. In diesem Falle n geringer Theil des Zuckers in das Körpervenenblut und in den Harn über. ;t zu der Gewissheit gekommen, dass die Leber eines mittelgrossen Kaninchens r Minute 0.12 ccm Zucker verarbeitet.

ie folgende ungekürzte Tabelle des Verf. zeigt, wie das Verhältniss zwischen ›sultaten nach der Injection von Zucker in das Pfortadersystem und nach der Körpervene ist. Der Harn wurde durch Druck aus der Blase entleert und t Fehling'scher Lösung dann der Zucker bestimmt.

| Quantität der injicirten Flüssigkeit | Vene | Zeitdauer der Injection | Zeit der Abpressung des Harns | Harnmenge | Zucker | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 20 ccm (3.0 Z.) | V. crur. | 12 Min. | 3 Stunden nach d. Injec. | 9 ccm | 0.45 | Dasselbe Kaninchen Nr. I. |
| 20 ccm (3.0 Z.) | V. mesent. | 12 Min. | 3 Stunden nach d. Injec. | 17 ccm | 0.3192 | |
| 20 ccm (3.0 Z.) | V. crur. | 13 Min. | 3½ Stunden nach d. Injec. | 32 ccm | 0.92 | Kaninchen Nr. II. |
| 20 ccm (3.0 Z.) | V. mesent. | 13 Min. | 4 Stunden nach d. Injec. | 16 ccm | 0.307 | |
| 10 ccm (1.5 Z.) | V. crur. | 15 Min. | 3 Stunden nach d. Injec. | 30 ccm | 1.36 | Kaninchen Nr. III. |
| 10 ccm (1.5 Z.) | V. mesent. | 15 Min. | 3 Stunden nach d. Injec. | 46 ccm | — | |
| 10 ccm (1.5 Z.) | V. crur. | 13 Min. | 2½ Stunden nach d. Injec. | 32 ccm | 1.001 | Kaninchen Nr. IV. |
| 10 ccm (1.5 Z.) | V. mesent. | 13 Min. | 2½ Stunden nach d. Injec. | 67 ccm | — | |
| 10 ccm (1.5 Z.) | V. crur. | 10 Min. | 2 Stunden nach d. Injec. | 25 ccm | 0.950 | Kaninchen Nr. V. |
| 10 ccm (1.5 Z.) | V. mesent. | 10 Min. | 3 Stunden nach d. Injec. | 60 ccm | — | |
| 10 ccm (1.5 Z.) | V. crur. | 10 Min. | 4 Stunden nach d. Injec. | 98 ccm | 1.0 | Kaninchen Nr. VI. |
| 10 ccm (1.5 Z.) | V. mesent. | 10 Min. | 3 Stunden nach d. Injec. | 13 ccm | 0.087 | |
| 8 ccm (1.2 Z.) | V. mesent. | 13 Min. | 3 Stunden nach d. Injec. | 58 ccm | — | Kaninchen Nr. VII. |
| 8 ccm (1.2 Z.) | V. crur. | 13 Min. | 3 Stunden nach d. Injec. | 37 ccm | 0.96 | |

Aus vorstehender Tabelle ersieht man zur Genüge, wie in das Pfortaders gelangter Zucker in der Leber zurückgehalten wird. Während der ersten Ver: als dem Verfasser noch die nöthige Uebung abging, waren die Injectionen un mässig, so dass zeitweise bei der Injection in die V. mesent. der Leber zu viel L auf einmal zugeführt wurde. Bei den letzten exact ausgeführten Experimentei schwindet diese Erscheinung, während der in die V. crur. injicirte Zucke vollständig im Harn sich wiederfindet.

Man wird wohl kaum annehmen können, dass der Zucker nicht als Gly zurückgehalten werde, schon auf Grund der Tscherinow'schen Experimente, nach Fütterung mit Zuckerstoffen sich Glycogen in der Leber bilde. Dass dei künstlich erzeugte Vorgang auch ein normaler ist, unterliegt wohl keinem Z da ja das Pfortaderblut stets zuckerhaltig ist und die entgegengesetzte A entschieden als unrichtig bezeichnet werden muss.

Die Bildung des Glycogens aus Zucker beruht auf einer Wasserabgab einem Process, dem wir im Thierkörper und zwar gerade in der Leber zum begegnen. Verf. erinnert nur an die gepaarten Gallensäuren und die Glyc verbindungen der verschiedenen aromatischen Säuren, deren Entstehung auf W austritt beruht. Unrichtig ist daher die Meinung von Tscherinow, als ob chemischen Standpunkte aus, die Glycogenbildung aus Zucker in der Schwierigkeiten hätte.

Das Glycogen ist ein Anhydrid der Dextrose und bei Behandlung mit S und Fermenten geht es glatt-unter Wasseraufnahme in Dextrose über.

---

Es würde voreilig sein, zu behaupten, dass das Glycogen in der Leber nu Kohlenhydraten seinen Ursprung verdanke. Dass auch aus den Eiweissstoffen Leimstoffen im Thierkörper Zucker gebildet wird, dafür ist der Diabetes ein unumstösslicher Beweis. Beim Ausschluss aller Kohlenhydrate aus der Na bildet der Diabetiker noch immer ansehnliche Quantitäten von Zucker, ja absoluten Hungern sogar aus eigenem Leibe. Für den normalen Organismus s am ungezwungensten die Annahme zu sein, dass das Leberglycogen, wenn ausschliesslich, so doch zum grössten Theil den in der Nahrung zugeführten Z stoffen seinen Ursprung verdankt.

---

Im Anschluss an diese Versuche theilt Verf. noch die Resultate seiner W holung der Eichhorst'schen Versuche über das Auftreten von Zucker im Harn Injection von Albuminaten, Amylaceen und Zucker in das Rectum mit; die haben ein negatives Resultat ergeben, d. h. Verf. konnte im Harne keinen od minimale Mengen von Zucker finden.

---

# Ueber die Reduction der Mononitronaphtoësäure

von

**P. v. Rakowski.**

Ber. 5, 1020. (Eingegangen am 9. Dcbr.; verl. in der Sitzung von Herrn Liebermann.)

Durch die Arbeiten von A. W. Hofmann und Merz sind fast gleichzeitig die beiden isomeren Naphtalincarbonsäuren bekannt geworden. Später hat Küchenmeister [1]) in einer in diesen Berichten veröffentlichten und seither nicht weiter vervollständigten Mittheilung die den beiden Carbonsäuren entsprechenden Mononitroderivate beschrieben. Ich habe nun die weiteren Derivate der Naphtoësäure zum Gegenstande meines Studiums gemacht und will in Folgendem über die bis dahin erzielten Resultate berichten.

Das käufliche (von Herrn Kunheim & Co. in Berlin bezogene) naphtalinsulfosaure Kalium wurde genau nach dem von Merz angegebenen Verfahren in Naphtalincyanür verwandelt und durch anhaltendes Kochen mit alkoholischer Kalilösung zu Naphtoësäure oxydirt. Das als Nebenproduct dabei gebildete Naphtoësamid, auf dessen Entstehung ich in einer früheren Notiz bereits aufmerksam gemacht habe [2]), kann durch erneute Behandlung mit alkoholischer Kalilösung ebenfalls zu Naphtoësäure umgesetzt werden, wodurch die Ausbeute an freier Säure noch erhöht wird. Zur Trennung der hierbei entstehenden beiden isomeren Säuren wurde die verschiedene Löslichkeit der Calciumsalze in Wasser benutzt. (Das $\beta$-Salz ist erst in 1800 Theilen Wasser löslich, während nach Hofmann das $\alpha$-Salz schon durch 93 Theile bei 15° gelöst wird.) Die Ausbeute an $\alpha$-Säure war sehr gering, sie betrug kaum $^1/_{10}$ des Gemenges; für die weitere Untersuchung wurde daher die aus Ligroin in Nadeln krystallisirende $\beta$-Säure verwendet. Nach Küchenmeister lässt sich die $\beta$-Naphtoësäure leicht in die Mononitronaphtoësäure verwandeln durch Eintragen eines innigen Gemenges von Naphtoësäure und Salpeter unter Umrühren in Schwefelsäure und Erhitzen auf freiem Feuer gegen Ende der Reaction. Ich habe es zweckmässig gefunden, die $\beta$-Naphtoësäure so lange mit 4 bis 5 Theilen Salpetersäure vom spec. Gew. 1.2 zu kochen, als noch rothe Dämpfe entweichen. Beim Erkalten der heissen Lösung krystallisirt dann die Mononitronaphtoësäure in kleinen gelben Nadeln, die man durch Umkrystallisiren aus heissem verdünntem Alkohol alsbald in reinem Zustande erhalten kann. Die Analyse der bei 110° getrockneten Substanz ergab 6.32 Proc. N, während die Formel $C_{10}H_6(NO_2)CO_2H$ 6.45 Proc. N verlangt.

---

[1]) Ber. 3, 739.

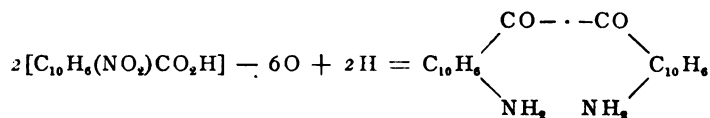
[2]) Ber. 5, 318.

Ich suchte mit reducirenden Agentien daraus die Amidosäure darzustellen.
n Zwecke wurde ein inniges Gemenge der reinen Säuren und fein vertheilten Zinn
em Becherglase mit so viel concentrirter Salzsäure übergossen, dass das 1
misch eben von der Flüssigkeit bedeckt wurde. Nach einigen Minuten erfc
:er starker Erwärmung eine ausnehmend heftige Reaction. Beim Erkalten erst
ın die aus Zinnchlorür und dem Reactionsproducte bestehende Masse krystallini
: behufs der Isolirung des letzteren mit kohlensaurem Ammoniak ausgekocht wu
s dem heissen Filtrate schied sich der neue Körper in gelben krystallinis
ɔcken Asche frei aus, die auf dem Filter gesammelt und durch wiederl
ystallisation aus verdünntem Alkohol gereinigt wurden. Die Analysen der
schiedener Darstellung herrührenden und bei 110° getrockneten Substanz zei
lessen, dass sie keineswegs die erwartete Amidosäure war. Die erhaltenen Za
gten, dass sie die empirische Zusammensetzung $C_{11}H_8NO$ besitzt; aus manc
ünden glaube ich jedoch, dass die verdoppelte Formel $C_{22}H_{16}N_2O_2$ die richtig

| | Theorie | | | Versuch 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $C_{22}$ | 264 | 77.65 | Proc. | 77.94 | 77.36 | 78.05 | 77.21 | — | Proc. |
| $H_{16}$ | 16 | 4.70 | „ | 4.90 | 4.71 | 4.71 | 4.90 | — | „ |
| $N_2$ | 28 | 8.24 | „ | — | — | — | — | 8.38 | „ |
| $O_2$ | 32 | 9.41 | „ | — | — | — | — | — | „ |
| | 340 | 100.00 | Proc. | | | | | | |

In Bezug auf das chemische Verhalten dieses Körpers ist zu bemerken, das
der mit Säuren noch mit Basen Verbindungen eingeht und beim Erkalten
issen Lösungen daraus unverändert krystallisirt; auch wird er aus der hei
sserigen Lösung durch Metallsalze nicht gefällt. In kaltem Wasser ist er k
lich, leichter in heissem, sehr leicht in absolutem Alkohol und Aether.
asser krystallisirt er in feinen mikroskopischen biegsamen Nadeln, aus Alk
ziemlich langen Prismen. Er schmilzt bei 174° (uncorrigirt) und erstarrt bei 1
eder, fängt jedoch schon bei 125° in kleinen Nadeln zu sublimiren an.
ncentrirter Schwefelsäure löst er sich leicht auf und kann durch Zusatz
asser daraus gefällt werden. Beim Zusatz einer verdünnten Lösung von sau
romsaurem Kalium färbt sich die Schwefelsäurelösung dunkelblau, und beim
nnen mit Wasser fällt dann ein neuer Körper aus in schmutzig violetten Floc

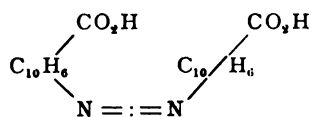
Die Entstehung dieses Reductionsproductes aus der $\beta$-Minonitronaphtoës
st sich wohl am einfachsten durch folgende Gleichung veranschaulichen:

$$2[C_{10}H_6(NO_2)CO_2H] - 6O + 2H = C_{10}H_6\begin{matrix} / CO - \cdot - CO \backslash \\ \backslash NH_2 \quad NH_2 / \end{matrix}C_{10}H_6$$

Das Studium der Zesetzungsproducte dieses Körpers, mit dessen Untersuch
ı mich beschäftige, wird jedenfalls Aufschluss über die Richtigkeit der hier
nommenen ketonartigen Constitution desselben geben.

Wird die Mononitronaphtoësäure mit gepulvertem Eisen und Essigsäure
m Wasserbade digerirt, so ist der Verlauf der Reaction ein sehr ruhiger. M

em Erkalten wird die Flüssigkeit von dem harzigen Rückstande abfiltrirt und dieser mit Aether geschüttelt. Der abdestillirte Aether hinterlässt dann genau dasselbe Product, welches ich durch Behandlung der Mononitrosäure mit Zinn und Salzsäure erhalten habe. Die Analyse Nr. I und II ist mit aus Eisen und Essigsäure erhaltenen Reductionsproducten ausgeführt worden.

Zum Schlusse will ich noch bemerken, dass es mir nicht gelungen ist, durch Einleiten von $SH_2$ in die heisse ammoniakalische Lösung der Nitrosäure die Amidosäure darzustellen. Die Analyse des in sehr geringen Mengen erhaltenen Reductionsproductes ergab Zahlen, die mit der Formel der Azonaphtoësäure:

$$\begin{array}{ccc} C_{10}H_6\diagup^{CO_2H} & & C_{10}H_6\diagup^{CO_2H} \\ \diagdown N & =:= & N \diagup \end{array}$$

übereinstimmen.

| | Theorie | | | Versuch | |
|---|---|---|---|---|---|
| $C_{22}$ | 264 | 71.36 | Proc. | 71.84 | Proc. |
| $H_{14}$ | 14 | 3.79 | „ | 3.77 | „ |
| $N_2$ | 28 | 7.55 | „ | — | „ |
| $O_4$ | 64 | 17.30 | „ | — | „ |
| | 370 | 100.00 | Proc. | | |

Laboratorium für medicinische Chemie in Bern.

# 1873

---

## Zur Kenntniss des Sulfoharnstoffs

von

**M. Nencki.**

Ber. 6, 598. (Eingegangen am 10. Mai; verl. in der Sitzung von Herrn Oppenheim.)

Versetzt man eine kalt gesättigte wässerige Lösung von Sulfoharnstoff mit der äquivalenten Menge von Cyanquecksilberlösung, so scheidet sich alsbald ein krystallinischer Niederschlag eines Doppelsalzes aus, welcher ausgewaschen und über Schwefelsäure getrocknet bei der Analyse mit der Formel:

$CSN_2H_4C_2N_2Hg$ übereinstimmende Zahlen ergab:

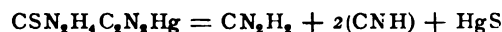
(ber. Hg 61.0, gef. 61.4. ber. S 9.75, gef. 9.81).

Der in kaltem Wasser nur wenig lösliche Körper lässt sich aus heissem nicht umkrystallisiren, indem beim Erwärmen der wässerigen Lösung ein schwarzer Niederschlag von Schwefelquecksilber sich bildet und zugleich der Geruch nach Blausäure auftritt. Wird die wässerige Lösung des Salzes bis zur vollständigen Entschwefelung gekocht, so erhält man nach dem Verdunsten der vom Metallsulfid abfiltrirten Lauge glänzende, prismatische Krystalle eines Körpers, der durch die Analyse und Schmelzpunktsbestimmung mit Leichtigkeit als identisch mit dem von J. Haag aufgefundenen und später von A. W. Hofmann[1]) als Entschwefelungsproduct des Sulfoharnstoffs

---

[1]) Ber. 2, 606.

Dicyanamid erkannt werden konnte. Die Zersetzung der Cyanquecksilber-
ʒ erfolgt demnach nach folgender Gleichung:

$$CSN_2H_4C_2N_2Hg = CN_2H_2 + 2(CNH) + HgS$$

entstandene Cyanamid geht dann durch Polymerisation in das Dicyanamid
Entschwefelung der Sulfoharnstoffe mittelst Cyanquecksilber ist eine sehr
ı habe auf die Weise grössere Quantitäten von Dicyanamid dargestellt und
ıächst über einige Derivate desselben berichten zu können.
harnstoff wird vom Essigsäureanhydrid beim gelinden Erwärmen mit
it gelöst und erstarrt beim Erkalten der heissen Lösung zu einer gelben
chen Masse, welche, aus heissem Wasser mehrfach umkrystallisirt, zuletzt
ismen lieferte. Die Analyse der im Vacuum getrockneten Substanz führte
mel des monoacetylirten Sulfoharnstoffs: $CS(C_2H_3O)H_3N_2$.

| Versuch | | Theorie | |
|---|---|---|---|
| C | 30.25 Proc. | $C_3$ | 30.50 Proc. |
| H | 5.41 „ | $H_6$ | 5.08 „ |
| N | 23.52 und 23.94 Proc. | $N_2$ | 23.72 „ |
| S | 27.27 Proc. | S | 27.11 „ |
| — | | O | 13.56 „ |

ıcetylirte Sulfoharnstoff löst sich leicht in Alkohol und heissem Wasser,
kaltem und in Aether. Er schmilzt bei 11.5⁰ (uncorrigirt) zu einer farb-
sigkeit. Die wässerige Lösung reagirt neutral und giebt mit Platinchlorid
linisches, in Wasser schwer lösliches Salz von der Zusammensetzung

$$CS(C_2H_3O)H_3N_2\ 2HCl,\ PtCl_4.$$

Erhitzen des Acetylsulfoharnstoffs mit Phosphorsäureanhydrid destillirt ein
iechendes in Wasser untersinkendes Oel über. Die dabei auftretende starke
g und in Folge davon nur wenig ergiebige Ausbeute verhinderten mich
is jetzt an einer genaueren Untersuchung dieser Substanz.
m diesjährigen Märzhefte der Liebig'schen Annalen findet sich eine Notiz
ırd über den von Maly aus Chloressigsäure und Sulfoharnstoff erhaltenen
lsulfoharnstoff. Unabhängig von Maly und Volhard habe ich ebenfalls
ıcetylsulfoharnstoff dargestellt und analysirt. Erst nachdem ich die Kennt-
er Maly'schen Entdeckung erhalten, habe ich die weitere Untersuchung
pers aufgegeben.

atorium für medicinische Chemie in Bern.

# Ueber die Einwirkung des Essigsäureanhydrids auf Rhodanammonium

von

**M. Nencki** und **W. Leppert.**

Ber. 6, 902. (Eingegangen am 13. Juli.)

Die leichte Acetylirung des Sulfoharnstoffs mittelst der wasserfreien Essigsäure und die Aussicht, durch Abspaltung eines Moleküls Ammoniak von dem Acetylsulfoharnstoff zu einem Acetylsenföl $\left.\begin{matrix}CS\\C_2H_3O\end{matrix}\right\}N$ zu gelangen, machte es wünschenswerth, den dem Acetylsenföl isomeren Cyansäureäther $\left.\begin{matrix}CN\\C_2H_3O\end{matrix}\right\}S$ darzustellen. Ein einfacher Weg hierzu schien uns in der Einwirkung der wasserfreien Essigsäure auf Rhodanammonium zu liegen. Die Umsetzung der beiden Substanzen könnte möglicherweise nach folgender Gleichung erfolgen:

$$\left.\begin{matrix}CN\\NH_4\end{matrix}\right\}S + (C_2H_3O)_2O = \left.\begin{matrix}CN\\C_2H_3O\end{matrix}\right\}S + C_2H_3O\text{-}\text{-}O\text{-}\text{-}HN_4.$$

Der angestellte Versuch hat uns indessen alsbald belehrt, dass die Reaction hier anders verläuft. Statt des erwarteten Aethers erhielten wir den sauren Acetyläther der zweibasischen Persulfocyansäure, $C_2H(C_2H_3O)N_2S_3$.

Werden drei Gewichtstheile völlig trockenen Rhodanammoniums mit zwei Gewichtstheilen wasserfreier Essigsäure auf dem Wasserbade erwärmt, so löst sich das erstere unter Gasentwickelung mit intensiv gelber Farbe zum grössten Theil in der Essigsäure auf. Die dabei gasförmig auftretenden Producte bestehen zum grössten Theile aus CNH und COS, in viel geringerer Menge aus $SH_2$ und $CO_2$. Lässt man, wenn die Gasentwickelung nachgelassen hat, die Flüssigkeit erkalten, so erstarrt sie zu einer gelben krystallinischen Masse, die, mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt, reichliche Fällung eines körnigen Niederschlages giebt. Man sammelt die abgeschiedene Substanz auf dem Filter, wäscht sie mit kaltem Wasser und krystallisirt aus siedendem 90 proc. Alkohol um. Beim Erkalten der alkoholischen Lösung scheidet sich der Acetylpersulfocyansäureäther in prächtigen gelben Nadeln aus. In der Mutterlauge ist nur wenig von der Substanz gelöst und kann durch Wasserzusatz daraus gefällt werden.

Die Analyse der zweimal aus Alkohol umkrystallisirten und über $SO_4H_2$ getrockneten Substanz ergab mit der Formel $C_2H(C_2H_3O)N_2S_3$ übereinstimmende Zahlen.

| Versuch | Theorie |
|---|---|
| C 24.70 Proc. | C 25.00 Proc. |
| H 2.39 „ | H 2.08 „ |
| N 14.42 „ | N 14.58 „ |
| S 49.93 „ | S 50.00 „ |

Die Acetylverbindung zeigt in ihrem Verhalten mit der Persulfosäure die grösste Aehnlichkeit. In kaltem Wasser ist sie beinahe unlöslich, nur wenig in kochendem und krystallisirt daraus beim Erkalten in schönen gelben Nadeln. In Alkohol und Aether löst sie sich mehr als wie in kochendem Wasser. Ihre Lösungen reagiren schwach sauer und geben mit den meisten Metallsalzen unlösliche amorphe Niederschläge. Von verdünntem Ammoniak wird sie mit Leichtigkeit gelöst und kann durch Zusatz einer stärkeren Säure daraus unverändert abgeschieden werden. Von Alkalien wird sie dagegen rasch zersetzt. Beim Ansäuren und Erwärmen der alkalischen Lösung entweicht Essigsäure und Schwefelwasserstoff. Nach den sorgfältigen Analysen Völkel's [1]) ist die Persulfocyansäure zweibasisch. Es ist uns nicht gelungen, trotz vielfacher Bemühungen, eine Metallverbindung der Acetylpersulfocyansäure, mit Ausnahme des Kupfersalzes, von constanter Zusammensetzung zu erhalten, da die Salze derselben schon beim Trocknen im Vacuum, wie es scheint, unter Bildung von Metallsulfiden, sich leicht zersetzen. Die Kupferverbindung, erhalten durch Auflösen der Substanz in sehr verdünntem Ammoniak und Zusatz von Kupfervitriol, bildet zunächst einen olivengrünen, amorphen Niederschlag, der sich aber rasch in einen rothen verwandelt. Die über Schwefelsäure getrocknete Substanz zeigte folgende Zusammensetzung:

0.4241 der Substanz gaben 0.1003 CuO und 0.3227 der Substanz gaben 35.5 ccm N, bei 24° und 724 mm Barometerstand oder in Procenten gef. 18.89 Cu und 11.71 N. Die erhaltenen Zahlen stimmen auf ein basisches Salz von der Formel:

$$[(C_2HC_2H_3ON_2S_3)_2Cu]_2 + CuO,$$

welche 19.27 Proc. Cu und 11.36 Proc. N verlangt.

Unter den angegebenen Verhältnissen operirend, erhielten wir aus 45 g Rhodanammonium und 30 g Anhydrid 7 g des Rohproductes. Es ist zweckmässig, wenn die Ausbeute ergiebig sein soll, die Temperatur des Gemenges nicht über 80° C. steigen zu lassen. Erwärmt man nämlich Rhodanammonium mit dem gleichen Molekulargewichte wasserfreier Essigsäure bis zum Siedepunkte der letzteren, so trübt sich die Flüssigkeit unter Abscheidung von Schwefel und aus einer herausgenommenen Probe wird durch Wasserzusatz keine Acetylpersulfocyansäure mehr abgeschieden. Setzt man das Erhitzen weiter fort, so destillirt etwas unverändertes Anhydrid und Schwefelkohlenstoff über, das zweite offenbar ein Zersetzungsproduct des Acetyläthers, dann steigt rasch die Temperatur unter Entwickelung von Ammoniak bis auf 218 bis 220° und das krystallinisch erstarrende Destillat besteht fast aus reinem Acetamid.

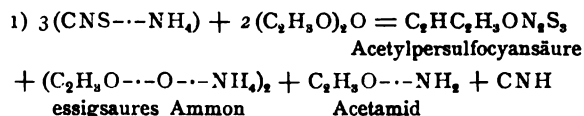
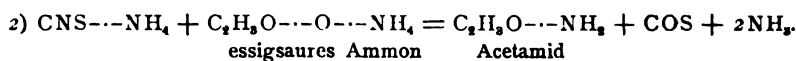
[1]) Ann. Chem. Pharm. **43**, 78.

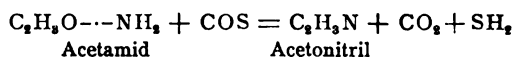
Die hier auftretenden Producte sind daher zum Theil dieselben, die Herr E. A. Letts [1]) bei der Destillation von Essigsäurehydrat mit Rhodankalium erhielt. Ohne Zweifel besteht die Einwirkung des Essigsäureanhydrids auf Rhodanammonium in zwei aufeinander folgenden Perioden, die man durch folgende Gleichungen ausdrücken kann

$$1)\ 3(CNS\text{--}NH_4) + 2(C_2H_3O)_2O = \underset{\text{Acetylpersulfocyansäure}}{C_2HC_2H_3ON_2S_3}$$

$$+ \underset{\text{essigsaures Ammon}}{(C_2H_3O\text{--}O\text{--}NH_4)_2} + \underset{\text{Acetamid}}{C_2H_3O\text{--}NH_2} + CNH$$

und in der zweiten Phase:

$$2)\ CNS\text{--}NH_4 + \underset{\text{essigsaures Ammon}}{C_2H_3O\text{--}O\text{--}NH_4} = \underset{\text{Acetamid}}{C_2H_3O\text{--}NH_2} + COS + 2NH_3.$$

Das Auftreten von $CO_2$ und $SH_2$ würde man mit Herrn Letts als Folge der Einwirkung des COS auf Acetamid nach der Gleichung:

$$\underset{\text{Acetamid}}{C_2H_3O\text{--}NH_2} + COS = \underset{\text{Acetonitril}}{C_2H_3N} + CO_2 + SH_2$$

erklären können. Wir müssen jedoch bemerken, dass in den Destillationsproducten Acetonitril von uns nicht nachgewiesen werden konnte. Für die Darstellung des Acetyläthers ist indessen die Anwendung des Anhydrids nicht nothwendig. Reines Essigsäurehydrat wirkt ebenfalls auf Rhodanammonium beim gelinden Erwärmen zunächst nach dem Schema:

$$(CNSH)_3 + C_2H_3O\text{--}OH = C_2H(C_2H_3O)N_2S_3 + CNH + H_2O,$$

und die Ausbeute an der Acetylverbindung der Ueberschwefelblausäure ist der mit dem Anhydrid erhaltenen nahezu gleich. Es bildet sich nur dabei in geringer Menge ein anderer röthlich gefärbter, krystallinischer Körper, von dem jedoch die Acetylverbindung durch Auflösen in verdünntem Ammoniak und Fällen mit Salzsäure sich leicht trennen lässt.

Der Versuch, aus geschmolzener Benzoësäure und Rhodanammonium den Benzoylpersulfocyansäureäther zu erhalten, fiel negativ aus. Die Temperatur, bei welcher die beiden Substanzen auf einander wirken, ist jedenfalls für das Bestehen des etwa gebildeten Aethers viel zu hoch; auch hier ähnlich wie beim Rhodankalium bildet sich unter stürmischer $SH_2$-Entwickelung hauptsächlich Benzonitril. Nach der Beobachtung von L. Glutz [2]) verwandelt Jodphosphor oder nascirender Wasserstoff aus Zinn und Salzsäure die Persulfocyansäure in Sulfoharnstoff, die daneben noch auftretenden Spaltungsproducte sind Schwefelwasserstoff und Schwefelkohlenstoff. Wir haben gefunden, dass die Acetylverbindung, mit reducirenden Agentien behandelt, ebenfalls zu Schwefelharnstoff umgewandelt wird.

Acetylpersulfocyansäure, mit Eisenpulver und verdünnter Essigsäure auf dem Wasserbade erwärmt, löst sich in der letzteren mit tief blauer Farbe auf, die jedoch bald

[1]) Ber. 5, 669.

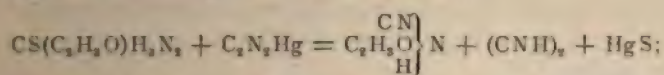
[2]) Ber. 3, 343.

verschwindet. Aus dem farblosen Filtrat wurde das Eisen durch Schwefelammonium entfernt und die Flüssigkeit zum Trocknen eingedampft. Der Rückstand besteht aus essigsaurem Ammonium und Schwefelharnstoff, der durch Krystallisation zunächst aus absolutem Alkohol und dann aus wenig heissem Wasser von dem essigsauren Salze getrennt werden konnte. Genau so wirkt auch Zinn und verdünnte Salzsäure. Wir haben den Sulfoharnstoff aus der Acetylpersulfocyansäure rein dargestellt und seine Identität durch eine N-Bestimmung bestätigt (gef. N 36.42 Proc., ber. 36.84 Proc.). Hierdurch ist die von uns erhaltene Verbindung als eine acetylirte Persulfocyansäure genügend charakterisirt. Auch in Bezug auf die Lagerung der Atome im Molekül der Persulfocyansäure scheint uns die Reduction unseres Aethers zu Sulfoharnstoff nicht ohne Interesse zu sein. Sind die Wasserstoffatome der Persulfocyansäure an Stickstoff gebunden, etwa nach folgendem Schema:

$$\left.\begin{matrix} CNS \\ NH_2 - \cdot - CS \end{matrix}\right\} S,$$

so hätte man jedenfalls nicht den Sulfo-, sondern den Acetylsulfoharnstoff erwarten können; da dies nun nicht der Fall, so ist es uns wahrscheinlicher, dass die beiden Wasserstofle der Persulfocyansäure an den Schwefel gebunden sind. Zum Schluss sei es noch gestattet, eine den Acetylharnstoff betreffende Beobachtung hinzuzufügen.

Acetylsulfoharnstoff (dessen Schmelzpunkt bei 165° C. liegt) wird durch Cyanquecksilber leicht entschwefelt. Die wässerige Lösung der beiden Substanzen giebt in der Wärme unter Entwickelung von Blausäure sofort einen Niederschlag von Metallsulfid. Man kann nicht bezweifeln, dass in der ersten Instanz die Umsetzung hier in folgender Gleichung ihren Ausdruck findet:

$$CS(C_2H_3O)H_3N_2 + C_2N_2Hg = \left.\begin{matrix} CN \\ C_2H_3O \\ H \end{matrix}\right\} N + (CNH)_2 + HgS;$$

als aber die Flüssigkeit nach der vollständigen Entschwefelung auf dem Wasserbade concentrirt wurde, schied sich in weissen Nadeln eine Substanz aus, deren Analysen und Verhalten gegen Reagentien uns leicht überzeugten, dass sie Acetylharnstoff ist. Danach verwandelte sich das zunächst gebildete Acetylcyanamid in wässeriger Lösung durch Aufnahme eines Moleküls $H_2O$ in den Acetylharnstoff. Es wird von Interesse sein, die Entschwefelung des Acetylsulfoharnstoffs in Gegenwart von Ammoniak vorzunehmen. Ein Versuch, den wir demnächst ausführen wollen.

Laboratorium für medicinische Chemie in Bern.

# Ueber das Verhalten einiger aromatischer Verbindungen im Thierkörper

von

**Leon v. Nencki.**

In.-Diss. Bern. — Arch. exp. P. Ph. I.

Die Erforschung des Verhaltens der aromatischen Verbindungen im Thierkö die in letzter Zeit mehrfach Gegenstand der Untersuchung war, gewinnt immer ı an Interesse. Es wird auf Grund der bisher vorhandenen Thatsachen nicht allei Gesetzmässigkeit hinsichtlich der Oxydation der aromatischen Körper im Thier festgestellt, sondern auch neue Gesichtspunkte über die Umsetzung auch der ] körper im thierischen Organismus gewonnen, und die Art der Oxydation ders wird bei weiterer Vervielfältigung der Thatsachen, die auf exactem analytischem V gewonnen werden, klar hervortreten.

Ich glaube deshalb, dass die vorliegenden Versuche, anscheinend ohne prakti Bedeutung, lediglich von theoretischem Gesichtspunkte aus unternommen, doch ı ohne Werth sein dürften.

Nach den Versuchen von O. Schultzen und M. Nencki[1]) wurden die Organismus in der Nahrung zugeführten fetten Amidosäuren: Leucin, Glycocol kurzer Zeit in Form von Harnstoff ausgeschieden. Ein ganz anderes Verhalten z das Acetamid ($CH_3-CO-NH_2$), welches, dem Organismus auch in grösseren D zugeführt, vollständig unverändert im Harne erscheint. Auf Grund dieses Verhal ist von den genannten Autoren der Satz aufgestellt worden: dass wohl sämmtl Amide der fetten Reihe ohne jede weitere Veränderung den Organismus verla Es war von Interesse, festzustellen, ob die aromatischen Amide ein ähnliches Verha zeigen würden. Ich wählte zu dem Zwecke das Benzamid, welches genau in Verhältniss zur Benzoësäure, wie das Acetamid zur Essigsäure steht.

| $CH_3-CO-OH$ | $CH_3-CO-NH_2$ |
|---|---|
| Essigsäure | Acetamid |
| $C_6H_5-CO-OH$ | $C_6H_5-CO-NH_2$ |
| Benzoësäure | Benzamid |

Das zu den Versuchen benutzte Benzamid habe ich nach dem von Gerhar angegebenen Verfahren dargestellt. Benzoylchlorür wurde mit überschüssigem koh

[1]) Zeitschrift für Biologie **8**, 124. — Dieser Band S. 1.

[2]) Lehrbuch d. org. Chemie **3**, 296.

saurem Ammonium in einem Mörser zerrieben und zur Vervollständigung der Reaction einige Zeit auf dem Wasserbade erwärmt, sodann, um den gebildeten Salmiak zu entfernen, mit kaltem Wasser versetzt. Das reichlich abgeschiedene Benzamid wurde durch ein einmaliges Umkrystallisiren aus heissem Wasser in chemisch reinem Zustande erhalten. Eine Stickstoffbestimmung führte zu folgendem Resultate:

0.3565 der Substanz gaben mit Kupferoxyd und vorgelegtem metallischem Kupfer verbrannt 38 ccm N bei 16° C. und 716 mm Barometerstand.

| Versuch | Theorie |
| --- | --- |
| N 11.47 Proc. | $C_6H_5 - CO - NH_2$ = N 11.57 Proc. |

Ich will hierbei bemerken, dass der Schmelzpunkt des Benzamids nicht, wie von Gerhardt angegeben, bei 115° C., sondern, wie ich wiederholt bestimmt habe, bei 126.5° C. liegt. Nachdem ich mich durch Versuche an Hunden von der Unschädlichkeit des Präparates überzeugt hatte, nahm ich selbst in refracta dosi täglich 5.5 g von der Substanz ein. Der zur Syrupconsistenz eingedampfte Harn wurde mit Alkohol gefällt, der Rückstand nach dem Verdunsten des alkoholischen Filtrates mit verdünnter $SO_4H_2$ angesäuert und mit Aether axtrahirt. Der abdestillirte Aether hinterliess eine krystallinische Masse, die unter dem Mikroskope die für die Hippursäure charakteristischen monoklinischen Prismen zeigte. Nach zweimaliger Krystallisation aus heissem Wasser unter Zusatz von Thierkohle wurde die Substanz über $SO_4H_2$ bis zu constantem Gewichte getrocknet und der Analyse unterworfen.

0.2953 der Substanz wie oben verbrannt ergab 18.5 ccm N bei 13.5° C. und 719 mm Barometerstand.

| Versuch | Theorie |
| --- | --- |
| N 7.00 Proc. | $C_9H_9NO_3$ = N 7.82 Proc. |

Das geringe Deficit in dem gefundenen N erklärt sich wohl aus dem Umstande, dass ein kleiner Theil der Hippursäure sich in Benzoësäure und Glycocoll umsetzte.

Es ist demnach das Verhalten eines aromatischen Säureamids durchaus von dem des Acetamids verschieden. Ohne Zweifel wird das Benzamid in den alkalischen Säften unter Aufnahme von $H_2O$ in Ammoniak und Benzoësäure gespalten, welche letztere dann als Hippursäure ausgeschieden wird.

---

Von besonderem Interesse war mir das Verhalten im Organismus der Kohlenwasserstoffe von der empirischen Zusammensetzung $C_{10}H_{16}$, welche unter dem allgemeinen Namen der Terpene zusammengefasst werden. Die bis dahin mit gewöhnlichem Terpentinöl angestellten Versuche haben allerdings zu keinem Resultate geführt. Man konnte indessen annehmen, dass dies wohl durch die Unreinheit des Präparates, als welches das käufliche Terpentinöl aufzufassen ist, bedingt war. Ich beschloss daher, diese Versuche mit reinem Kohlenwasserstoff von der Zusammensetzung $C_{10}H_{16}$

zu wiederholen. Die Arbeiten von Barbier [1]), Oppenheim [2]) und Kekulé [3]) machen es in hohem Grade wahrscheinlich, dass die verschiedenen Terpene Hydrüre des Cymols sind, da es den genannten Chemikern gelang, Terpen in Cymol überzuführen.

Nach den Versuchen von M. Nencki und E. Ziegler [4]) wird aber das Cymol (also ein Methyl-Propyl-Benzol) im Organismus zu Cuminsäure oxydirt. Es war daher unter der Voraussetzung, dass das Terpen ein Bihydro-Cymol $\left(C_6H_6 <^{C_3H_7}_{CH_3}\right)$ ist, wahrscheinlich, dass das letztere im Organismus zu Bihydro-Cuminsäure $\left(C_6H_6 <^{C_3H_7}_{COOH}\right)$ umgewandelt wird.

Ein Kilo des aus der hiesigen pharmakognostischen Sammlung stammenden Terpentinöls von Abies pectinata Dec., welches ich der Freundlichkeit des Herrn Professor Flückiger verdanke, wurde zunächst mit überhitztem Wasserdampf überdestillirt, das ölige Destillat mit etwas Kalihydrat geschüttelt, über Chlorcalcium getrocknet und im $CO_2$-Strom rectificirt. Der grösste Theil des Destillates ging constant bei 163° C. über. Es war daher anzunehmen, dass die bei 163° C. übergehende Fraction reiner Kohlenwasserstoff $C_{10}H_{16}$ war, was auch durch die Elementar analyse bestätigt wurde. — Die damit angestellten Fütterungsversuche haben mic indessen zu keinem positiven Ergebnisse geführt. Sowohl aus dem Hunde- wie auc aus dem menschlichen Harne erhielt ich nach der beim Benzamid angegebene Methode, oder nach vorausgehender Fällung des Harnes mit basischem Bleiacet nur sehr geringe Mengen eines harzigen Productes, in welchem einzelne farblo Nadeln sich befanden, an deren Isolirung und Analyse aber bei der minimalen Men der Substanz nicht zu denken war. Die sauer reagirende harzige Masse zersetz die kohlensauren Salze. Es gelang indessen nicht, die Zink- oder die Baryu verbindung, trotz wiederholter Reinigung, in krystallinischem Zustande zu erhalte Auch beim Zersetzen dieser Salze mit Säuren wurde stets nur ein harziges Oel a geschieden, so dass nach vielfachen Versuchen die Hoffnung, irgend eine chemis reine Substanz zu isoliren, aufgegeben werden musste.

O. Schultzen und B. Naunyn [5]) zeigten, dass das Toluol $(C_6H_5\,CH_3)$ Organismus zu Benzoësäure und das Xylol $\left(C_6H_4 <^{CH_3}_{CH_3}\right)$ zu Toluylsäure oxyd wird, welche beide Säuren als Glycocollpaarlinge im Harne auftreten. — Es war demna von vornherein wahrscheinlich, dass in einem dreifach substituirten Benzolabköm linge nur eine Seitenkette zu COOH oxydirt werde. Ein Versuch, den ich na dieser Richtung hin mit dem Mesitylen anstellte, bestätigte vollkommen diese Ansic

Nach den schönen Versuchen von R. Fittig [6]) ist das aus dem Aceton dur Destillation mit concentrirter Schwefelsäure erhaltene Mesitylen zweifellos ein trim

[1]) Ber. 5, 215.
[2]) Ibid. S. 94 und 628.
[3]) Ibid. 6, 437.
[4]) Ibid. 5, 749. — Dieser Band S. 41.
[5]) Reichert's und Du Bois-Reymond's Archiv, Jahrg. 1867, Heft 3.
[6]) R. Fittig, Ann. d. Chem. u. Pharm. 141, 129.

thylirtes Benzol $C_6H_3\begin{matrix}CH_3\\CH_3\\CH_3\end{matrix}$. So giebt das Mesitylen beim Erhitzen mit Natronkalk oder Zinkstaub das Dimethylbenzol und bei der Oxydation mit verdünnter Salpetersäure wird es zunächst zu Mesitylensäure $C_6H_3\begin{matrix}COOH\\CH_3\\CH_3\end{matrix}$ oxydirt, welche letztere beim Kochen mit Chromsäure schliesslich die dreibasische Trimesinsäure $C_6H_3\begin{matrix}COOH\\COOH\\COOH\end{matrix}$ liefert. Das käuflich von Herrn Dr. Trommsdorf in Erfurt als Mesitylen puriss. bezogene Präparat wurde aus einem Fractionirkölbchen destillirt. Die Flüssigkeit ging dann bis auf den letzten Tropfen constant bei 162 bis 163° C. über. Nach Fittig siedet das reine Mesitylen bei 163° C. Es war danach kein Grund, an der Reinheit des Präparates zu zweifeln, und der Kohlenwasserstoff wurde ohne Weiteres zu den Fütterungsversuchen benutzt. Gleich wie vom Hunde- so auch vom Menschenkörper wird das Mesitylen mit Leichtigkeit zu Mesitylensäure oxydirt. Nach Genuss von 5.5 g des Kohlenwasserstoffes erhielt ich aus dem Menschenharne 3 g der rohen Säure, die, anfangs röthlich gefärbt, sich leicht durch Kochen mit Thierkohle entfärben liess. Die gereinigte Säure, mit metallischem Natrium geglüht und nach dem Auslaugen des Rückstandes mit Eisenoyduloxyd und HCl versetzt, zeigte die für den Stickstoffgehalt charakteristische blaue Färbung; allein schon bei der mikroskopischen Betrachtung wurde es mir wahrscheinlich, dass hier ein Gemenge von zweierlei Säuren vorliegt. Man konnte nämlich neben wohlausgebildeten sechsseitigen Tafeln, welche die Hauptmenge bildeten, auch undeutlich gezackte, der Benzoësäure ähnliche Blättchen erkennen.

Die Vermuthung, dass hier neben der Glycocollverbindung auch bereits stickstofffreie Säure vorliegt, hat die Elementaranalyse bestätigt. Ich erhielt 4 Proc. N, während die Formel der Mesitylenursäure 6.7 Proc. verlangt.

Um die beiden Säuren zu trennen, wurde das aus dem Harne erhaltene Gemenge mit Wasserdämpfen destillirt, wodurch die flüchtige stickstofffreie Säure sich mit den Wasserdämpfen in der Vorlage absetzte. Sie wurde über $SO_4H_2$ getrocknet und ergab bei der Analyse mit der Formel der Mesitylensäure übereinstimmende Zahlen.

0.4029 der Substanz gaben bei der Verbrennung mit chromsaurem Blei 1.0598 $CO_2$ und 0.2313 $H_2O$.

| Theorie | Versuch |
|---|---|
| C 72.00 Proc. | C 71.74 Proc. |
| H 6.66 „ | H 6.38 „ |

Ihr Schmelzpunkt wurde bei 165° bis 166° C. gefunden. (Nach Fittig schmilzt die Mesitylensäure bei 166° C.) Es ist danach als erwiesen anzunehmen, dass ähnlich wie das Xylol zu Toluylsäure, das Mesitylen zu Mesitylensäure im Organismus oxydirt wird. Es ist auch in hohem Maasse wahrscheinlich, dass sich die gebildete Mesitylensäure im Thierkörper mit Glycocoll paart und nur die leichte Zersetzbarkeit

der Mesitylenursäure in ihre Componenten ihre Reindarstellung behindert. Bei wiederholten Versuchen hoffe ich jedoch auch die Mesitylenursäure in reinem Zustande zu erhalten und ihre Eigenschaften näher beschreiben zu können.

Die vorliegenden Untersuchungen habe ich im Laboratorium meines Bruders und unter dessen Anleitung ausgeführt.

Bern, im Juli 1873.

---

# Zur Kenntniss der amyloiden Substanz

von

E. Modrzejewski.

Arch. exp. P. Ph. I, 426.

Die Arbeiten von Friedreich und Kekulé [1]) und C. Schmidt [2]), sowie die späteren von Kühne und Rudnew [3]) haben die frühere Meinung, als ob die amyloide Substanz zu der Gruppe der Kohlehydrate gehöre, vollständig widerlegt.

Friedreich und Kekulé, welche, wie es scheint, mit dem bisher reinsten Präparate der amyloiden Substanz ihre Untersuchungen anstellten, erhielten bei der Elementaranalyse folgende Zahlen: C 53.58, H 7.00, N 15.04, welche Zusammensetzung also von der des Albumins nur sehr wenig abweicht.

Obgleich daher die Frage über die Natur des Amyloids durch die Analysen von Friedreich und Kekulé entschieden war, so war es doch von Interesse, zu untersuchen, ob die Spaltungsproducte desselben qualitativ und quantitativ mit denen des Albumins identisch seien, oder ob vielleicht das Amyloid, mit verdünnten Säuren gekocht, andere ihm eigenthümliche Spaltungsproducte liefern würde. Zugleich stellte ich mir die Aufgabe, die amyloide Substanz in reinem Zustande darzustellen. Die folgende Untersuchung habe ich an zwei hochgradig degenerirten Lebern, die mir zu dem Zweck Herr Professor Th. Langhans freundlichst überlassen hat, ausgeführt.

Die erste der beiden stammte von einem an Lungenphthise verstorbenen Manne. Neben der Leber waren noch afficirt: die Milz, die Nieren, das Endocardium, die Schleimhaut des Magens und des Darmes. Der zweite Fall betraf eine an Meningitis tuberculosa verstorbene Frau. Es erlitten hier neben der Leber ebenfalls die Milz und die Nieren eine hochgradige Degeneration. Ich will mich bei der Angabe des Sectionsbefundes nur auf die Beschreibung der krankhaft veränderten Leber beschränken. Im ersten Fall war die Leber stark vergrössert, hart, mit verdickten

[1]) Virchow's Archiv **16**, 58.

[2]) Annal. d. Chem. u. Pharm. **109**. 250.

[3]) Virchow's Archiv **33**. 66.

Rändern, auf dem Querschnitte trocken, von glänzendem Aussehen. Mikroskopisch untersucht zeigen die Leberzellen keine deutlichen Contouren und sind homogen glänzend. Mit Jod erhält man die charakteristische rothe Färbung, durch Zusatz von concentrirter Schwefelsäure wurde dieselbe verstärkt. Im zweiten Falle war die Leber ebenfalls bedeutend vergrössert, hart, auf dem Querschnitte röthlich-gelb gefärbt, trocken, die Acini undeutlich; nach Zusatz von Jod und Schwefelsäure trat die rothe Färbung ein. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigten sich die Acini amyloid entartet, nur ein schmaler peripherer Saum derselben war durch Fettinfiltration ausgezeichnet.

Aus diesen Lebern suchte ich zunächst das reine Amyloid darzustellen. Bei der ersten Darstellung befolgte ich genau das Verfahren von Friedreich und Kekulé. Die von dem serösen Ueberzuge befreite Leber wurde in kleine Stückchen zerhackt und mit der Pincette möglichst von dem Bindegewebe und den kleinen Gefässen befreit, sodann mit Wasser von 20° C. während 24 Stunden digerirt. Nachdem das Wasser abgegossen und die Substanz möglichst trocken gepresst war, wurde sie mit frischem Wasser mehrere Stunden gekocht. Dieses diente dazu, das lösliche Albumin und die leimgebenden Stoffe zu entfernen. Die nun von Neuem ausgepresste Substanz wurde successive mit verdünntem Alkohol und Aether ausgezogen. So erhielt ich eine weisslich-graue Masse, die durch Jod und Schwefelsäure roth gefärbt wurde, aber im Uebrigen die von Kühne und Rudnew angegebenen Eigenschaften des Amyloids besass. Bei der zweiten Darstellung habe ich, den Vorschlag von Kühne und Rudnew befolgend, das so gereinigte Amyloid noch während zweier Tage mit schwach salzsaurer Pepsinlösung (nach der v. Wittich'schen Vorschrift bereitet) der künstlichen Verdauung überlassen, und schliesslich, um sicher alles Albumin zu entfernen, digerirte ich in der Kälte den Verdauungsrückstand mit Barytwasser, worin das Amyloid unlöslich ist. So gewann ich ein nur etwas weisseres Pulver, das aber übrigens in nichts von dem vorigen Präparate sich unterschied.

Um nun die Zersetzungsproducte des Amyloids zu erhalten, verfuhr ich folgendermaassen. Ein Theil der trockenen Substanz wurde mit drei Gewichtstheilen englischer Schwefelsäure, welche mit sechs Theilen Wasser verdünnt war, zunächst auf dem Wasserbade digerirt. Das Amyloid löste sich darin nach kurzer Zeit mit tief violettrother Farbe vollständig auf, sodann wurde sie in einem mit Rückflusskühler versehenen Kolben acht bis zehn Stunden auf dem Sandbade gekocht. Nach Verlauf dieser Zeit liess ich erkalten und versetzte die mit Wasser verdünnte schwefelsaure Lösung mit kohlensaurem Kalk bis zur alkalischen Reaction. In dem Filtrate wurde der gelöste Gyps durch Oxalsäure und der Ueberschuss der letzteren durch Digestion in der Wärme mit kohlensaurem Blei entfernt. Nach der Entfernung des gelösten Bleies durch Schwefelwasserstoff erhielt ich nunmehr eine Lösung, in der sich die Zersetzungsproducte des Amyloids befinden mussten.

Beim langsamen Verdunsten dieser Lauge krystallisirte nun zunächst Tyrosin in den charakteristischen, concentrisch gruppirten Nadeln und bei weiterer Concentration kamen die ebenfalls charakteristischen Kugeln des Leucins zum Vorschein. Andere Zersetzungsproducte in der bis zum Syrup concentrirten Lauge habe ich

nicht nachweisen können. In einem Versuche erhielt ich aus 25 g des Amyloids 0.91 Tyrosin oder 3.6 Proc. In einem zweiten aus 100 g 3.9 g, also in Mengen, wie sie gewöhnlich bei der Zersetzung der Albuminstoffe durch verdünnte Schwefelsäure erhalten werden. Die Menge des Leucins liess sich nicht genau bestimmen, doch scheint sie der bei der Zersetzung der Albuminate gebildeten ebenfalls gleich zu sein. Die von den beiden Darstellungen nach wiederholter Entfernung des Leucins erhaltenen Syrupe wurden, um die etwa darin vorhandene Glutaminsäure oder Asparaginsäure zu isoliren, in Wasser gelöst und mit Bleicarbonat gekocht. Das Filtrat musste, falls die beiden Säuren darin vorhanden waren, nach Zusatz von Alkohol eine Fällung von den respectiven Bleisalzen geben. Ich erhielt allerdings, als ich die wässerige Lösung mit vielem Alkohol versetzte, einen körnigen Niederschlag, jedoch in so geringer Menge, dass an dessen weitere Verarbeitung nicht zu denken war.

Ich glaube danach annehmen zu dürfen, dass auch in Bezug auf die nächsten Spaltungsproducte die amyloide Substanz den Albuminaten gleichzustellen ist.

Laboratorium des Herrn Prof. Nencki in Bern.

---

# Ueber den Einfluss der Muskelbewegung auf die Eiweisszersetzun[g] im menschlichen Organismus

von

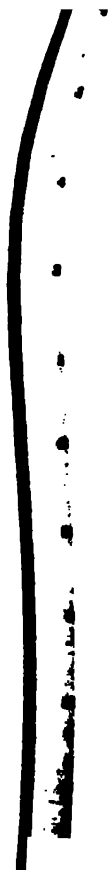
**F. Schenk.**

(Hierzu Tafel I.)

In.-Diss. Bern. — Arch. exp. P. Ph. 2, 21.

Seinem hochverehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. Nenc[ki] in Bern hochachtungsvoll gewidmet vom Verfasser.

Ein interessantes, aber bis jetzt noch ziemlich dunkles Capitel der Physiologi[e] bildet die Lehre von den Einnahmen und Ausgaben des thierischen Organismu[s]. Für die Physiologen ist namentlich die Erkenntniss der einzelnen chemischen Process[e], welche die dem Organismus zugeführten Nahrungsstoffe bis zu ihrer Ausscheidun[g] erleiden, der dabei frei werdenden Kräfte, sei es in Form von Wärme oder Bewegung, ihre Grösse und ihre Ausnutzung im thierischen Haushalte, von hervorragendem Interesse; auch ist die Verwendung der hierüber gewonnenen richtig[en] Gesichtspunkte jedenfalls, sowohl in medicinisch-praktischer als auch in volkswirthschaftlicher Hinsicht, von grosser Tragweite, weshalb jede experimentelle Thatsach[e], wenn sie auch nur einzelne Punkte dieser Vorgänge beleuchtet, wohl verdient, in de[n] Annalen der Physiologie verzeichnet zu werden.

Von den drei grossen chemischen Gruppen unserer organischen Nahrungsstoff[e], den Amylacea, den Fetten und den Albuminstoffen, spielen die letzteren im thierische[n]

die hervorragendste Rolle, da der grösste Theil unserer Gewebe selbst
besteht. Theils aus diesem Grunde, theils aber auch weil der Stick-
er Albuminstoffe den Organismus in fester Gestalt verlässt und dadurch
hseluntersuchungen wesentlich erleichtert werden, besitzen wir über die
er Albuminate verhältnissmässig noch die zahlreichsten und zuverlässigsten
. Wir können nicht mit Bestimmtheit sagen, dass der Kohlenstoff oder
den wir unserem Körper als Nahrung in Form von Fett oder Zucker
mmtlich zu Kohlensäure resp. Wasser oxydirt werde, wohl aber können
nd der Arbeiten von Bischoff und Voit (Die Gesetze der Ernährung
essers, Leipzig und Heidelberg 1860) behaupten, dass im Zustande des
ichgewichts der sämmtliche, in 24 Stunden dem Organismus in Form
zugeführte Stickstoff zu 96 Proc. als Harnstoff neben den geringen
von Kreatinin und Harnsäure ausgeschieden wird. Wir verdanken
n exacten und mühevollen Arbeiten Carl Voit's die Feststellung zweier,
ıtniss des thierischen Stoffwechsels sehr wichtigen Thatsachen: nämlich
bei einer gewissen täglich gleichmässigen Zufuhr von Fleisch und Fett
e Organismus sich dauernd auf seinem Gewichte erhält, in diesem Falle
ler Stickstoff in Form von Harnstoff; zweitens, dass im Zustande des
ichgewichtes nach starker Arbeit in 24 Stunden zum Zustandekommen
nicht mehr Eiweiss zersetzt wird als in der Ruhe. Während nun der
beiden Sätze bereits durch eine grosse Anzahl von Versuchen ver-
Experimentatoren, falls sie nur mit der nöthigen Sorgfalt angestellt
ı als richtig erwies, ja sogar die Grundlage für alle dergleichen Unter-
usmacht, da man nunmehr nur auf solche Stoffwechseluntersuchungen
nehmen hat, denen die Herstellung des Stickstoffgleichgewichtszustandes
ist der zweite Satz, da er den bisherigen Ansichten über die Beziehung
zur thierischen Stoffmetamorphose widersprach, vielfach angegriffen
bis auf den heutigen Tag sind die Physiologen hierüber nicht einig.
tlich stellte Voit seine Versuche über den Einfluss der Muskelarbeit
ge des ausgeschiedenen Harnstoffes [1]) an einem Hunde an, welcher seine
nem Tretrade verrichtete, sowohl im Hungerzustande, als auch im Zu-
leichgewichtes zwischen Einnahme und Ausgabe. Bei der dazu nöthigen
ch (1500 g) schied der Hund 109 bis 110 g Harnstoff in der Ruhe
Arbeit 114 bis 117 im Mittel. Das geringe Plus an ausgeschiedenem
der Arbeit betrachtet Voit nicht als Folge des vermehrten Umsatzes
körpern wegen der Arbeit und sucht durch ein mir unwahrscheinliches
ıt diese Thatsachen zu erklären.

diesen Voit'schen Satz wurde zunächst von Meissner der Einwand
s der Harn ausser dem Harnstoff noch andere stickstoffreiche Substanzen
inin, Harnsäure), deren Mengen bei den Untersuchungen Voit's nicht
gt worden seien. Es ist nicht bewiesen, dass nicht diese für gewöhnlich

suchungen über den Einfluss des Kochsalzes, des Kaffees und der Muskel-
f den Stoffwechsel. München 1860.

allerdings in geringer Menge in den Harn übergehenden Stoffe, oder der eine oder der andere derselben, nach körperlicher Arbeit vermehrt ausgeschieden werde.

Voit wiederholte nun seine Versuche und fand die Harnstoffausscheidung bei Ruhe und Arbeit übereinstimmend mit der directen Stickstoffbestimmung. Damit hatte er nun die von Meissner gemachte Einwendung widerlegt, aber wiederum erlitt seine Theorie einen neuen Angriff durch die Versuche Parkes'[1]), aus denen der Verfasser den mit Voit's Ansicht in directem Widerspruch stehenden Schluss zieht, es werde durch die körperliche Anstrengung die Harnstoffausscheidung vermehrt und zwar zeige sich diese Vermehrung erst in der der Arbeit folgenden Ruheperiode. Diese Versuche waren an Soldaten angestellt, theilweise bei stickstoffloser Nahrung; die Arbeit bestand in anhaltendem Marschiren auf ebenem Terrain. Die drei Versuchsreihen ergaben folgende Tabellen:

| | | I. | | II. | | | III. | | Anmerkung: |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Harnstoff | Stickstoff | Harnstoff | Stickstoff | | Harnstoff | Stickstoff | |
| 1 | Gewöhnl. Beschäft. | 37.66 | 0.308 | 40.24 | 1.17 | | 13.072 | 0.164 | Unter der Rubrik Stickstoff ist die zwischen der directen Stickstoffbestimmung durch Natronkalk u. dem aus dem Harnstoff berechneten Stickstoff gefundene Differenz angegeben. |
| 2 | | 35.69 | 0.153 | 34.58 | 4.378 | G. B. | 10.731 | 0.419 | |
| 3 | | 36.3 | 2.272 | 34.42 | 1.02 | Arbeit | 9.271 | 0.001 | |
| 4 | | 37.3 | 0.088 | 38.28 | 1.119 | | 7.323 | 0.394 | |
| 5 | Ruhe | 39.7 | 1.544 | 40.6 | 1.175 | Ruhe | 15.997 | 0.800 | |
| 6 | | 36.9 | 0.930 | 37.6 | 1.276 | | | | |
| 7 | Gewöhnl. Beschäftig. | 34.0 | 0.035 | 34.5 | 0.582 | | | | |
| 8 | | 37.4 | 0.236 | 39.2 | 0.332 | | | | |
| 9 | | 38.9 | 1.210 | 41.4 | 1.262 | | | | |
| 10 | | 34.0 | 1.626 | 35.0 | 1.712 | | | | |
| 11 | Arbeit | 35.0 | 1.912 | 39.4 | 0.342 | | | | |
| 12 | | 41.7 | 1.302 | 40.09 | 1.752 | | | | |
| 13 | Gewöhnl. Beschäftig. | 43.6 | 0.88 | 38.0 | 2.517 | | | | |
| 14 | | 39.5 | 1.509 | 40.1 | 0.537 | | | | |
| 15 | | 42.9 | 3.459 | 35.6 | 2.623 | | | | |
| 16 | | 37.19 | 2.179 | 41.86 | 2.063 | | | | |

Zu ganz anderer Ansicht gelangte Engelmann in seiner Arbeit über Schwefel- und Phosphorsäureausscheidung bei körperlicher Arbeit, wobei er auch die Harnstoffausscheidung berücksichtigte. Er gelangte dabei zu dem auffallenden Resultate, dass nur durch anstrengende Arbeit die Harnstoffausscheidung vermehrt werde, durch mässige Arbeit dagegen vermindert. Dafür giebt er folgende Erklärung: „Bei mässiger Arbeit, wo die Eiweisszersetzung nur wenig vermehrt ist, die Hautthätigkeit aber um ein Bedeutendes, wird so viel mehr Stickstoff in anderen Verbindungen und mit dem Schweiss (!) ausgeschieden, dass das Harnstoffquantum im Urin vermindert wird, bei starker Arbeit aber wird die Stickstoffausscheidung um so viel vermehrt, dass sie diese Abgabe erleiden kann und doch noch im Harnstoff ein Plus erzeugen."

[1]) Proceedings of the royal society **16**, 44.

Nach einer solchen Erklärung könnte man sich füglich der Ansicht von Parkes anschliessen, ohne deshalb mit Voit im Widerspruch zu stehen, indem man annehmen würde, es sei die vom Hunde im Tretrade geleistete Arbeit in den Versuchen von Voit zu gering gewesen, um ein Plus im Harnstoff zu erzeugen; allein es spielt in den Versuchen von Engelmann ein Umstand mit, dem man bei Ueberlegung verschiedener Thatsachen ebenfalls einen Einfluss auf die Eiweisszersetzung zuschreiben dürfte. Es ist dies die Schlaflosigkeit. Bei Engelmann finden wir die Arbeitszeit nämlich bis auf die Nacht ausgedehnt, wodurch sich seine Arbeitsleistung wesentlich von der anderer Forscher unterscheidet und nicht eher mit diesen zur Vergleichung gezogen werden darf, als bis bekannt ist, ob sich die blosse Schlaflosigkeit dabei wirklich so indifferent verhält, wie Engelmann es ohne Weiteres annimmt.

Ich erinnere zur Begründung meiner Einwendung hier nur an das rasche Herunterkommen von Kranken, welche wegen ihrer schmerzhaften Affectionen schlaflose Nächte zubringen müssen. Wenn sich für solche Kachexien gewöhnlich auch andere Ursachen finden lassen, so wird immerhin Niemand die Möglichkeit bezweifeln wollen, dass die Schlaflosigkeit dieses Sinken aller physischen Kräfte befördern könnte.

Die Voraussetzung einer solchen Möglichkeit gab mir nun Veranlassung, die Versuche von Engelmann in der angedeuteten Weise fortzusetzen, um erstens zu erfahren, inwiefern der Zustand der Schlaflosigkeit die Harnstoffausscheidung beeinflusst und ferner, wenn die Harnstoffausscheidung der Körperanstrengung irgendwie proportionell ist, zu erfahren, ob bei einer bis zur höchsten Potenz gesteigerten Arbeit eine wenn auch nicht der Arbeit proportionelle, so doch über alle durch die täglichen Schwankungen bedingten Fehlerquellen hinaustretende Harnstoffvermehrung stattfindet.

Meinen ersten Versuch begann ich am 22. Januar 1873 und zwar absichtlich im Winter, damit ich hoffen durfte, die von Engelmann angenommenen Perspirationsausgaben auf ein Minimum zu beschränken und in meinen täglichen Ausscheidungen eine grössere Gleichmässigkeit zu erzielen als im Sommer. Wie Engelmann, experimentirte auch ich an mir selbst. Ich war damals 23 Jahre alt und hatte am ersten Versuchstage ein Gewicht von 78.75 kg. Eine längere vorhergegangene Versuchsreihe scheiterte an den Schwierigkeiten, welche solchen Versuchsreihen entgegentreten, allein sie lehrte mich doch, mit wie vielen Factoren man hier zu rechnen hat und dass es in allen Dingen die grösste Genauigkeit und namentlich bei der Auswahl der Speisen eine Reduction auf das möglichst Einfache erfordert, um zu einer gleichmässigen Ausscheidung zu gelangen und längere Zeit im Stickstoffgleichgewicht zu verbleiben. Gestützt auf diese Erfahrungen glaube ich denn auch sowohl in Betreff der Genauigkeit der Bestimmung, als auch in der Zubereitung und Zufuhr der Nahrung das Möglichste geleistet zu haben, indem ich das Abwägen und Zubereiten der Nahrung selbst übernahm, feste und flüssige Nahrung nicht nur in immer gleicher Quantität, sondern auch genau zur selben Zeit zuführte und endlich auch die Harnstoffbestimmungen nach der Liebig'schen Titrirmethode immer zweimal und bei Tageshelle ausführte. Ich habe dieser Methode wegen der Leichtigkeit und Schnelligkeit der Ausführung den Vorzug vor anderen gegeben, da

sie, wenn der Harn nicht allein mit der Barytmischung, sondern auch mit Silbernitrat vollständig ausgefällt wird, hinreichend genau ist. Den Harn sammelte ich von Morgens 7 Uhr des einen bis zur selben Stunde des anderen Tages und versäumte auch nie, Tag- und Nachtharn gehörig zu mischen.

Meine tägliche Nahrung war folgende:

| Fest: | | Flüssig: | |
|---|---|---|---|
| Fleisch | 400 g | Milch | 500 ccm |
| Brot | 375 „ | Wasser | 1000 „ |
| Kartoffeln | 250 „ | Bier | 1000 „ |
| Kochsalz | 14 „ | Summa | 2500 ccm |
| Butter | 100 „ | | |
| Summa | 1139 g | | |

Der Stickstoffgehalt des von mir gegessenen Brotes wurde von Herrn Prof. Nencki nach der volumetrischen Methode von Dumas zu 1.2033 Proc. bestimmt, der der Milch in zwei verschiedenen Portionen zu 0.6107 und 0.5968, im Mittel zu 0.6037 Proc. Nimmt man nun den Stickstoffgehalt des Rindfleisches nach den Bestimmungen von Dr. S. Nowak [1]) zu 3.58 Proc. und den Eiweissgehalt der Kartoffeln [2]) zu 1.323 Proc. mit 0.1984 Stickstoff an und vernachlässigt den jedenfalls unbedeutenden N-Gehalt der nicht ausgelassenen Butter und des täglich getrunkenen Bieres, so ergiebt sich die tägliche Stickstoffzufuhr in Summa zu 22.346 g, welche = 47 g Harnstoff sind. Man wird aus den unten angegebenen Tabellen ersehen, dass fast sämmtlicher Stickstoff der Nahrung im Harne als Harnstoff erscheint und der Stickstoff des Kothes jedenfalls ein sehr geringer sein muss.

Dabei ist zu bemerken, dass ich das Fleisch täglich frisch erhielt und dasselbe stets aufs Sorgfältigste von Fett und Fasern befreite. Das Brot ass ich immer ohne Kruste. Das Kochen besorgte ich im Laboratorium in einem Schnellkochapparat, einer für solche Zwecke äusserst empfehlenswerthen Vorrichtung. Das Nachtessen nahm ich schon Abends 6 Uhr zu mir, um sicher sein zu können, dass aller Stickstoff der täglichen Nahrung bis 7 Uhr Morgens des folgenden Tages ausgeschieden werde. Indem ich zur körperlichen Arbeit hauptsächlich die Nacht verwendete, wurde es mir möglich, auch während der Arbeitszeit genau dieselbe Lebensweise, d. h. Beschäftigung im Laboratorium, inne zu halten. Nach 6 Tagen befand ich mich im Stickstoffgleichgewicht, d. h. die Harnstoffausgabe entsprach der Stickstoffeinnahme. 4 Tage später begann die Arbeitsperiode, die sich auf 3 Tage und die 2 dazwischen liegenden Nächte erstreckte, gewiss Zeit genug, um eine ansehnliche Ermüdung erzielen zu können.

Der 31. Januar war der erste Arbeitstag; bis Morgens 10 Uhr spazierte ich, von 10 bis 1 Uhr verrichtete ich meine gewöhnliche Arbeit auf dem Laboratorium, spazierte dann wieder bis 6 Uhr und turnte hernach noch bis Abends 9 Uhr. Sodann fuhr ich mit der Eisenbahn nach Thun und legte von 11 Uhr Nachts bis

[1]) Sitzungsberichte d. k. Akademie d. Wissenschaften in Wien. Jahrg. 1871. 2. Abtheilung, Octoberheft.

[2]) Moleschott, Physiologie d. Nahrungsmittel. Zahlenbelege S. 151.

6 Uhr Morgens den Weg von Thun nach Bern, was einer Distanz von 31 km entspricht, zu Fuss zurück, ohne mich während dieser Zeit jemals niedergesetzt zu haben. Der 2. Tag verlief ungefähr wie der erste unter beständiger Bewegung, währenddem nun die darauf folgende zweite Nacht ganz besonderer Erwähnung verdient. In Begleitung des Herrn Dr. Leppert, damaligen Assistenten des Herrn Prof. Dr. Nencki, legte ich den Weg von Bern nach Murten zurück, wiederum eine Distanz von 32 km, während welcher Zeit mich mein Begleiter aufs Gewissenhafteste vor dem Einschlafen beschützte. Eine ganz bedeutende Ermüdung war denn auch die gewünschte Folge dieser nächtlichen Strapazen. Endlich kam der dritte und letzte Arbeitstag, an welchem ich begreiflicherweise zu keiner anstrengenden Arbeit nehr fähig war, den ich jedoch immerhin zubrachte, ohne mich vom Schlafe überwältigen zu lassen.

Auf diese Zeit der Anstrengung folgten dann 14 Tage mit gewöhnlicher Bechäftigung. Um nun in dieser Versuchsreihe den Einfluss der Schlaflosigkeit allein uf die Harnstoffausscheidung zu prüfen, habe ich nach 18 Tagen zwei Nächte in vollständiger Ruhe zugebracht, ohne dabei einzuschlafen, und um das Spiel des Zufalls uszuschliessen, hat Herr Prof. Dr. Nencki diesen Versuch mit mir zugleich an ich selbst angestellt. Ebenso wie ich, so hat auch er, bevor überhaupt der Harnstoff estimmt wurde, sechs Tage vorher die unten angegebene Nahrung zu sich genommen. eine tägliche Nahrung, deren Zubereitung ich ebenfalls selbst besorgte, war folgende

| Fest: | | Flüssig: | |
|---|---|---|---|
| 'leisch | 300 g | Theeaufguss | 500 ccm |
| rot | 180 „ | Wein | 500 „ |
| artoffeln | 250 „ | Wasser | 500 „ |
| ochsalz | 14 „ | Summa | 1500 ccm |
| utter | 100 „ | | |
| Summa | 844 g | | |

Dabei verhielt sich nun die Harnstoffausscheidung wie folgt:

| | | Harnvolumen | Spec. Gewicht | Harnstoff | | | Harnvolumen | Spec. Gewicht | Harnstoff | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Gewöhnl. Beschäftig. | Januar 22 | 1500 | 1025 | 43.64 | Gewöhnliche Beschäftigung | Febr. 3 | 1870 | 1028 | 50.96 | |
| | „ 23 | 2190 | 1020 | 41.98 | | „ 4 | 2170 | 1026 | 52.26 | |
| | „ 24 | 2215 | 1021 | 46.44 | | „ 5 | 1800 | 1024 | 44.78 | |
| | „ 25 | 2380 | 1022 | 52.29 | | „ 6 | 2400 | 1021 | 46.21 | |
| | „ 26 | 1730 | 1026 | 39.19 | | „ 7 | 1930 | 1021 | 46.26 | |
| | „ 27 | 1900 | 1026 | 43.60 | | „ 8 | 2000 | 1026 | 46.1 | |
| | „ 28 | 2150 | 1026 | 46.43 | | „ 9 | 2340 | 1018 | 46.1 | |
| | „ 29 | 2300 | 1023 | 46.24 | | „ 10 | 2110 | 1020 | 46.3 | |
| | „ 30 | 2200 | 1025 | 46.21 | | „ 11 | 1970 | 1022 | 45.8 | |
| Arbeit. | Januar 31 | 2200 | 1028 | 46.21 | | Febr. 12 | 2000 | 1023 | 46.1 | Schlaflose Zeit |
| | Febr. 1 | 2270 | 1028 | 51.19 | | „ 13 | 2050 | 1021 | 46.3 | |
| | „ 2 | 2260 | 1027 | 55.58 | | „ 14 | 2160 | 1020 | 46.2 | |
| | | | | | | Febr. 15 | 1960 | 1020 | 41.1 | |

| | | Harn-volumen | Spec. Gewicht | Harn-stoff | |
|---|---|---|---|---|---|
| Gewöhnliche Beschäftig. | Febr. 8 | 1370 | 1022 | 28.9 | |
| | „ 9 | 1020 | 1025 | 30.4 | |
| | „ 10 | 1070 | 1023 | 29.8 | |
| | „ 11 | 1240 | 1020 | 28.4 | |
| | Febr. 12 | 1220 | 1020 | 28.4 | Schlaflose Zeit |
| | „ 13 | 1425 | 1019 | 28.7 | |
| | „ 14 | 1162 | 1022 | 28.6 | |
| | Febr. 15 | 1460 | 1015 | 23.8 | |

Mein Körpergewicht vor dem ersten Arbeitstage betrug 78.5 kg und sank a— dritten Tage nach Beendigung der Arbeit auf 76.8 kg.

Diese Tabellen zeigen folgende Eigenthümlichkeiten: In den ersten sechs Tag— meiner Reihe schwankt die Harnstoffausscheidung innerhalb ziemlich weiter Grenze— zeigt in den folgenden vier Tagen eine auffallende Gleichmässigkeit, steigt dann sch— nach dem ersten Arbeitstage von 46.21 auf 51.19, erreicht am letzten Arbeitsta— die grösste Höhe von 55.58 g, sinkt dann allmählich wieder, um endlich erst a— dritten Tage nach der Arbeit zur Norm zurückzukehren und nun wieder die frühe— Gleichmässigkeit zu zeigen. Ich will hier noch ausdrücklich die so auffallen— Gleichmässigkeit, sowohl in der Menge des täglich ausgeschiedenen Wasse— als wie auch der des Harnstoffs in einer so langen Versuchsreihe hervorhebe— denn eine solche ist bis jetzt von keinem der bisherigen Experimentator— erreicht worden. Das Mittel der 4 Tage mit gewöhnlicher Beschäftigu— vor der Arbeitszeit beträgt 46.2 g Harnstoff, das Mittel der 4 folgenden Tage 52— ergiebt sich also eine 5 Tage lang anhaltende mittlere Vermehrung von 6.3 Harnstoff per Tag, gewiss eine deutliche, ausserhalb der Fehlergrenzen liegen Mehrausscheidung, die aber immerhin im Verhältniss zur geleisteten Arbeit als se— gering bezeichnet werden darf. Diese Vermehrung muss unzweifelhaft der Arb— zugeschrieben werden, denn die obenstehende Tabelle zeigt uns weiter, dass — Schlaflosigkeit allein kein solcher Einfluss zugeschrieben werden darf. In den bei— Reihen von Herrn Prof. Nencki und mir bleibt die Harnstoffausscheidu— während der schlaflosen Zeit absolut gleich und zeigt sogar einen Tag nachher e— plötzliche, nicht unbedeutende Verminderung. Leider haben wir schon an d— Tage, an welchem diese Verminderung bemerkt wurde, mit der gleichmässig— Diät aufgehört, wodurch eine Fortsetzung der Reihe vereitelt wurde. Für — genügt vorläufig die Thatsache, dass die Schlaflosigkeit jedenfalls keine Vermehru— des Harnstoffs erzeugt, und es scheint also das in Reihe I gefundene Plus ganz u— gar, wenn auch vielleicht nur indirect, Folge der körperlichen Anstrengung zu sei—

Am 5. September 1873 begann ich mit meiner II. Versuchsreihe, an die ic— weiter keine Ansprüche machte, als dass sie mir zur Bekräftigung der in Reihe gefundenen Resultate dienen sollte. Nahrungszufuhr, Sammeln und Titriren de— Harnes, alles dies geschah genau wie in Reihe I. Die Reihe dauerte 22 Tage; de— 18., 19. und 20. Tag mit den dazwischen liegenden Nächten bildeten die Arbeitszeit,

usgehenden und die nachfolgenden Tage die Zeiten der gewöhnlichen Be-
ng. Die Arbeit des ersten Tages bestand im Spazieren und Turnen.
fuhr ich per Eisenbahn nach Solothurn, um diesen Weg von Solothurn
n sofort nach der Ankunft zu Fuss zurückzulegen, was etwa einer Entfernung
km entsprechen würde. Allein die Nacht war stockfinster, der Weg
ekannt und so wurde denn diese Arbeit durch das häufige Erklettern
lener Wegweiser und durch einen circa 5 km betragenden Umweg
ein Erhebliches verstärkt. Auch diesen Marsch machte ich ununterbrochen,
als auszuruhen. Der 2. und 3. Tag verliefen ähnlich wie der erste unter
licher Anstrengung der noch vorhandenen Kräfte, während die dazwischen-
2. Nacht der schlechten Witterung und der wunden Füsse wegen nicht mit
en, sondern mit Steinheben im Zimmer zugebracht werden musste, und
schah dies auch wieder unter sorgfältiger Bewachung. Der betreffende
n ich, um die Arbeit auf die ganze Nacht zu vertheilen, mit Beginn einer
iertelstunde Anfangs 10 Mal, später 5 Mal und gegen Morgen nur noch
jeweilen 2 m hoch hob, wiegt 46 kg und wurde im Ganzen 200 Mal
. Dabei muss ich bemerken, dass ich mich nach dieser Arbeit
sehr ermüdet fühlte, als dies in der ersten Versuchsreihe nach dem Marsche
iten Nacht der Fall war, was wohl dem Umstande zuzuschreiben sein mag,
e Arbeit dieser Nacht keine fortgesetzte, sondern eine durch viele, wenn
rze Ruhepausen unterbrochene war.

s Resultat dieses Versuches ist folgendes:

| | | Harn-quantum | Spec. Gewicht | Harnstoff |
|---|---|---|---|---|
| September | 5 | 1460 | 1026 | 42.73 |
| " | 6 | 1650 | 1023 | 45.34 |
| " | 7 | 1990 | 1020 | 48.28 |
| " | 8 | 2240 | 1017 | 51.14 |
| " | 9 | 1950 | 1020 | 48.88 |
| " | 10 | 1690 | 1023 | 48.59 |
| " | 11 | 2080 | 1021 | 48.28 |
| " | 12 | 1380 | 1025 | 47.76 |
| " | 13 | 1130 | 1030 | 45.27 |
| " | 14 | 1310 | 1028 | 47.28 |
| " | 15 | 1280 | 1028 | 44.57 |
| " | 16 | 1700 | 1023 | 44.77 |
| " | 17 | 2240 | 1018 | 44.92 |
| " | 18 | 1730 | 1022 | 43.57 |
| " | 19 | 2070 | 1017 | 42.50 |
| " | 20 | 1430 | 1026 | 42.85 |
| " | 21 | 1530 | 1024 | 45.89 |
| " | 22 | 1920 | 1020 | 46.15 |
| " | 23 | 1440 | 1024 | 44.70 |
| " | 24 | 2450 | 1017 | 44.57 |
| " | 25 | 1910 | 1020 | 43.84 |
| " | 26 | 2540 | 1015 | 41.12 |

Mein Körpergewicht blieb während dieser Zeit constant dasselbe, nämlich 80.5 kg.

Auffallend mag es Anfangs erscheinen, dass die Harnstoffausscheidung in dieser Tabelle bei Weitem nicht die Gleichmässigkeit von Tab. I zeigt, allein dabei ist zu berücksichtigen, dass die Reihe I im Winter, dagegen Reihe II im warmen Sommer ausgeführt wurde. Man ist deshalb leicht geneigt, anzunehmen, dass das im Winter gefundene Plus an Stickstoff im Sommer durch den Schweiss verloren gehe; allein dass dem nicht so ist, beweist der Umstand, dass ich auf der Fusstour von Solothurn nach Bern, da die Nacht kühl war, nur wenig und jedenfalls viel weniger geschwitzt habe, als in den der Arbeit vorangehenden Tagen und dass gerade in den Tagen, an welchen die Menge des Harnwassers geringer war, absolut mehr Harnstoff ausgeschieden wurde, als in den Tagen, wo ich die grösste Harnwassermenge hatte. Man vergleiche nur den 7. und 8. Tag, den 15. und 17., den 19. und 20., den 21. und 22. u. s. w., um sich dann zu überzeugen. Dies deutet darauf hin, dass die Schwankungen in der Menge des täglich ausgeschiedenen Harnstoffs gleichzeitig mit den Schwankungen der Menge des Harnwassers auftreten, ohne jedoch irgend welche Proportionalität zu zeigen.

Diese Schwankungen in der täglichen Harnstoffausscheidung sind jedoch keineswegs so gross, dass sich nicht auch hier eine Vermehrung, wie sie Tabelle I zeigt, deutlich erkennen liesse, wenn wirklich eine solche bestände. Nun aber verhält sich die Sache ganz anders; von Vermehrung des Harnstoffs nach der körperlichen Arbeit zeigt sich kaum eine Spur.

Nach Engelmann's Ansicht müsste also auch hier die Arbeit zu gering gewesen sein, um ein Plus von Harnstoff zu erzeugen; allein eine solche Annahme würde sich schwerlich rechtfertigen lassen, da ich mich in der ersten Nacht in der Arbeitszeit der letzten Versuchsreihe bedeutend müder fühlte, als dies nach der entsprechenden Zeit der ersten Reihe der Fall war.

Das Ergebniss der II. Versuchsreihe spricht jedenfalls unzweideutig dafür, dass die Arbeit in keinem directen Zusammenhange mit der Harnstoffausscheidung steht. Allerdings haben sowohl Voit als Parkes und Engelmann bei anstrengender Arbeit eine wenn auch sehr geringe Harnstoffvermehrung in der auf die Arbeit folgenden Ruhezeit gefunden; allein schon Engelmann beobachtete nach einer, wie er angiebt, nicht übermässigen Arbeit eine Verminderung im ausgeschiedenen Harnstoff und diese eine Thatsache lässt Zweifel zu, dass überhaupt die Arbeit eine wenn auch geringe Harnstoffvermehrung zur Folge hat. Die eben angeführte Versuchsreihe von mir, die mit der grössten Sorgfalt und jedenfalls sehr bedeutender Körperanstrengung angestellt wurde, lässt überhaupt eine directe Beziehung zwischen der Arbeit und der vermehrten Harnstoffausscheidung nicht zu. Es wird schwer möglich sein, dafür eine Erklärung zu finden, dass in Reihe I nach der Arbeit eine Vermehrung des Harnstoffs gefunden wurde und in der unter ganz gleichen Verhältnissen angestellten Reihe II durchaus keine. Ich habe wohl auf den zunächst von Meissner gemachten Einwand, gegenüber den ersten Versuchen von Voit, Rücksicht genommen. In der II. Versuchsreihe wurde während der Arbeitstage neben dem Harnstoff zugleich sowohl Harnsäure und Kreatinin nach der Methode von Neubauer, als auch der Gesammtstickstoff bestimmt.

Die dabei erhaltenen Resultate sind folgende:

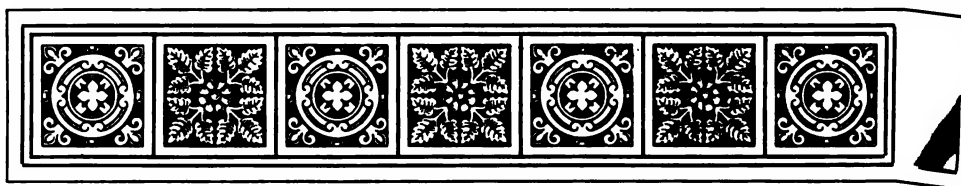
1. Harnsäure am letzten Arbeitstage 0.9786 g, Kreatinin 1.3936 g und der Gesammtstickstoff von Prof. Nencki nach der Dumas'schen Methode in zwei Bestimmungen zu 23.6749 g und 23.4317 g gefunden.
2. Harnsäure am Tage nach der Arbeit 1.0167 g, Kreatinin 1.267 g.

Die erhaltenen Zahlen sind bei einer solchen Fleischdiät durchaus innerhalb der normalen Grenzen, so dass die Annahme, der Gesammtstickstoff werde bei der Arbeit nicht in Form von Harnstoff ausgeschieden, hier nicht berechtigt ist.

Aber sieht man nun die Resultate der nach dieser Richtung hin angestellten Versuche, wie ich sie auf beigegebener Tafel I graphisch dargestellt habe, so lässt sich wirklich keine directe Beziehung zwischen der geleisteten Arbeit und dem ausgeschiedenen Stickstoff herausfinden. In der Regel steigt der Harnstoff schon während der Arbeitszeit um ein Geringes und erreicht das Maximum der Steigerung in der darauf folgenden Ruhe: jedoch ist diese Steigerung auch bei gleicher Nahrung und annähernd gleicher Arbeit durchaus nicht überall dieselbe, wie man dies z. B. aus Curve Nr. 1 und 2 von Parkes ersehen kann. Die höchste Steigerung der Stickstoffausscheidung nach der Arbeit erzielte Parkes in seiner Reihe Nr. 3 (stickstoffhaltige Nahrung), wo die Stickstoffmenge im Harn von 7.32 auf 15.99 gestiegen ist. Das von mir erzielte Resultat ist jedenfalls von hohem Interesse, denn aus dem Vergleich der beiden Reihen geht aufs Unzweideutigste hervor, dass auch diese geringe Steigerung des ausgeschiedenen Harnstoffs nicht eine absolut nothwendige Folge der geleisteten Arbeit ist und unter Umständen, für die man jetzt schwerlich genügende Erklärung geben könnte, sogar vollständig ausbleiben kann.

Zum Schluss will ich noch hinzufügen, dass die Vorstellung, als ob zum Zustandekommen der Arbeit nur stickstofffreies Material verbraucht werde und die von den meisten Autoren beobachtete geringe Steigerung des ausgeschiedenen Stickstoffs als Folge der Abnutzung der Muskelmaschine aufzufassen wäre, keineswegs richtig sei; denn schon Engelmann fand, wie seine Curve Nr. 1 zeigt, nach anstrengender Arbeit keine Stickstoffvermehrung, und wenn man die Vorstellung von der Muskelmaschine aufrecht erhalten wollte, so wäre man gezwungen, zu der Hypothese Zuflucht zu nehmen, dass der Muskel bis zu einer gewissen Grenze arbeiten kann, ohne von seiner Substanz einzubüssen.

Dass auch diese Annahme unrichtig ist, wird ebenfalls durch meine Versuche bewiesen, wo bei nahezu gleicher Arbeit die eine Reihe eine so bedeutende Vermehrung des Harnstoffs zeigt, wie sie bis jetzt noch nie beobachtet worden ist; währenddem die zweite Reihe nicht die mindeste Vermehrung erkennen lässt.

Laboratorium des Herrn Professor Nencki in Bern.

# 1874.

## Ueber einige Verbindungen des Aldehyds

von

**M. Nencki.**

Ber. **7**, 158. (Eingegangen am 7. Februar; verlesen in der Sitzung von Herrn Oppenheim.)

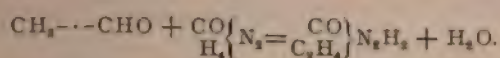
In seinen Untersuchungen über die Einwirkung der Aldehyde auf den Harnstoff gelangte H. Schiff[1]) zur Darstellung einer Reihe von Verbindungen, deren Entstehung darauf beruht, dass der Sauerstoff der CHO-Gruppe der Aldehyde mit den Wasserstoffen des Harnstoffs zu Wasser sich vereinigt und an die Stelle der ausgetretenen Wasserstoffe der zweiwerthige Aldehydrest eintritt. Kurz darauf machte Strecker[2]) die Beobachtung, dass auch andere Säureamide mit den Aldehyden Verbindungen, unter Austritt von Wasser, eingehen, und es wurden hierauf in seinem Laboratorium von den Herren Roth[3]), Schuster[4]) und Medicus[5]) die Verbindungen mehrerer aromatischer Aldehyde und des Oenanthols mit dem Benzamid, Acetamid und Oxamid dargestellt und näher untersucht. In den meisten hierher gehörigen Substanzen werden unter Austritt von einem Molekül Wasser zwei Moleküle Amid durch den Aldehydrest zusammengekettet. Es lassen sich jedoch, nach den Untersuchungen H. Schiff's, die Aldehyde unter

---

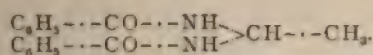
[1]) H. Schiff, Ann. Chem. Pharm. **151**, 186.
[2]) Strecker, Zeitschr. f. Chemie 1868, S. 650.
[3]) Roth, Ann. Chem. Pharm. **154**, 72.
[4]) Schuster, Daselbst **154**, 80.
[5]) Medicus, Daselbst **157**, 44.

Austritt von zwei oder mehr Molekülen Wasser wenigstens mit dem Harnstoff auch zu complicirteren Verbindungen vereinigen.

Ein verschiedenes Verhalten gegenüber dem der anderen Aldehyde zeigte der Acetaldehyd zu Harnstoff. Bringt man nach den übereinstimmenden Angaben von Schiff und Reynolds [1]) Harnstoff oder Sulfoharnstoff mit Aldehyd zusammen, so entsteht kein aldehydisches Diureïd, sondern ein Substitutionsproduct: der Aethylidenharnstoff:

$$CH_3---CHO + \begin{matrix}CO\\H_4\end{matrix}\Big\{ N_2 = \begin{matrix}CO\\C_2H_4\end{matrix}\Big\} N_2H_2 + H_2O.$$

Ausser dem Aethylidenharnstoff ist von den Amidverbindungen des Acetaldehyds nur noch das von Berthelot und Péan de St. Gilles [2]) durch die Einwirkung des Cyans auf wässerigen Aldehyd erhaltene Aethylidendioxamid genauer bekannt. Ich will in Folgendem einige Verbindungen beschreiben, die sich an die bekannten Amidoverbindungen des Aldehyds anschliessen, und die namentlich in Bezug auf ihre Bildung bemerkenswerth sind.

Aethylidenbenzamid. Benzamid wird von reinem Aldehyd nur wenig gelöst; setzt man jedoch nur wenige Tropfen verdünnter Salzsäure hinzu, so löst es sich in dem letzteren unter Temperaturerhöhung leicht und vollständig auf. Beim Erkalten erstarrt dann die Flüssigkeit zu einer weissen krystallinischen Masse, dem Aethylidenbenzamid:

$$\begin{matrix}C_6H_5---CO---NH\\C_6H_5---CO---NH\end{matrix}>CH---CH_3.$$

Die so erhaltene Substanz wurde auf dem Filter mit kaltem Wasser ausgewaschen, zwischen Fliesspapier abgepresst und nach zweimaliger Krystallisation aus heissem 90 proc. Alkohol im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet. Bei der Analyse wurden folgende Zahlen erhalten:

| Es wurde gefunden | Die Formel $C_{16}H_{16}N_2O_2$ verlangt: |
|---|---|
| C 71.63 Proc. | C 71.64 Proc. |
| H 6.38 „ | H 5.97 „ |
| N 10.30 „ | N 10.44 „ |
| | O 11.95 „ |

Das Aethylidenbenzamid ist in heissem Wasser nur sehr wenig löslich, leicht löslich in Aether und heissem Alkohol und krystallisirt aus der alkoholischen Lösung beim Erkalten in weissen rhombischen Nadeln. Mit verdünnter Salz- oder Schwefelsäure gekocht, geht es leicht unter Aufnahme von Wasser in Aldehyd und Benzamid über. Auf Platinblech erhitzt, schmilzt es zunächst zu einer farblosen Flüssigkeit und verbrennt leicht mit russender Flamme. Im capillaren Röhrchen schmilzt es bei 188° C. (uncorrigirt).

[1]) Reynolds, Ber. **4**, 800.
[2]) Ann. Chem. Pharm. **128**, 338.

Aethylidenurethan. Aehnlich wie mit den Amiden, verbindet sich Aldehyd auch mit dem Carbaminsäureäther. Es tritt auch hier der Sauerstoff des Aldehyds mit zwei Wasserstoffatomen zweier Urethanmoleküle in Form von Wasser aus, und es werden die zwei Moleküle Urethan durch die zweiwerthige Aethylidengruppe zusammengebunden:

$$CH_3 - CHO + 2(NH_2 - CO - O - C_2H_5) = CH_3 - CH\begin{matrix} - NH - COOC_2H_5 \\ - NH - COOC_2H_5 \end{matrix} + H_2O$$

Aethylidenurethan

Zur Darstellung von Urethan benutzte ich mit Vortheil die Beobachtung von Bunte[1]), wonach salpetersaurer Harnstoff, mit absolutem Alkohol in zugeschmolzenem Rohre einige Stunden auf 120 bis 130° C. erhitzt, sich zu salpetersaurem Ammonium und Urethan umsetzt. Das Reactionsproduct wurde mit Aether ausgeschüttelt und die nach dem Verdunsten des Aethers erhaltenen Krystalle durch Destillation gereinigt.

Urethan löst sich schon bei gewöhnlicher Temperatur mit Leichtigkeit im Aldehyd auf. In verschlossenen Gefässen beobachtet man dann öfters erst nach mehreren Tagen an den Gefässwänden die Krystallisation des Aethylidenurethans. Rascher erfolgt die Bildung der Krystalle, wenn man eine Lösung von Urethan in Aldehyd mit wenig Wasser versetzt und offen an der Luft stehen lässt. Setzt man aber zu der Lösung einige Tropfen verdünnter Salzsäure, so erfolgt ebenfalls, wie beim Benzamid, unter starker Erwärmung die sofortige Bildung der neuen Substanz, welche nach dem Erkalten durch Wasserzusatz in schönen, atlasglänzenden, weissen Nadeln gefällt werden kann.

Das Aethylidenurethan ist in Aether, Alkohol und heissem Wasser leicht löslich, weniger in kaltem, und lässt sich gut aus heissen wässerigen Lösungen umkrystallisiren. In trockenem Zustande sind die Krystalle geschmack- und geruchlos. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 126° C.; sie lassen sich aber nicht ohne Zersetzung überdestilliren. Als in einem Versuche 12 g des Aethylidenurethans in einer kleinen Retorte im Oelbade erhitzt wurden, begann die Substanz bei 182° C. zu sieden, und es ging, indem das Thermometer fortwährend bis auf 250° C. stieg, neben der unveränderten Substanz auch ein schweres, in Wasser untersinkendes Oel von stechendem Geruch über, welches aber nicht weiter untersucht wurde. Bei der Analyse des über Schwefelsäure getrockneten Aethylidenurethans erhielt ich folgende Zahlen:

| Versuch | | Theorie | |
|---|---|---|---|
| C | 47.06 Proc. | $C_8$ | 47.05 Proc. |
| H | 8.30 „ | $H_{16}$ | 7.84 „ |
| N | 14.08 „ | $N_2$ | 13.72 „ |
| | | $O_4$ | 31.39 „ |

Auch diese Substanz, mit verdünnten Säuren erwärmt, nimmt ein Molekül Wasser auf und zerfällt rasch in Urethan und Aldehyd.

[1]) Bunte, Annal. Chem. Pharm. **151**, 181.

Eine interessante Erscheinung bei der Bildung der beiden beschriebenen Körper ist die fermentartige Wirksamkeit der verdünnten Salzsäure. Eine kleine Spur der letzteren ist im Stande, grosse Quantitäten Aldehyd in Aethyliden zu verwandeln. In einem Versuche wurden 10 g Benzamid durch einen einzigen Tropfen Salzsäure mit Aldehyd zu Aethylidenbenzamid umgesetzt. Man kann nicht annehmen, dass die Salzsäure selbst hier in die Verbindung eintritt und die Bildung des Aethylidenurethans z. B. etwa nach folgender Gleichung erfolgt:

$$CH_3 - CHO + 2HCl = CH_3 - CHCl_2 + H_2O$$

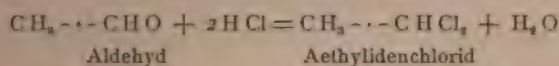
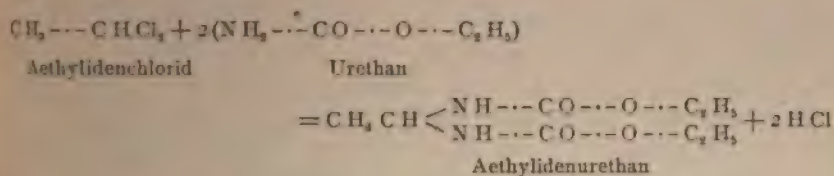
Aldehyd — Aethylidenchlorid

und in der zweiten Phase:

$$CH_3 - CHCl_2 + 2(NH_2 - CO - O - C_2H_5)$$

Aethylidenchlorid — Urethan

$$= CH_3 CH < \begin{matrix} NH - CO - O - C_2H_5 \\ NH - CO - O - C_2H_5 \end{matrix} + 2HCl$$

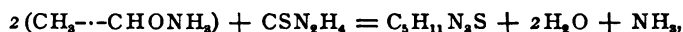
Aethylidenurethan

und die so gebildete Salzsäure wieder auf ein zweites, drittes u. s. w. Aldehydmolekül nach dem obigen Schema einwirkt, da, wie ich mich durch einen besonders angestellten Versuch überzeugte, Aethylidenchlorid mit Urethan im zugeschmolzenen Rohr mehrere Stunden bis auf 120° C. ohne die mindeste Veränderung erhitzt werden kann. Die Bildung des Aethylidenurethans erfolgt ausserdem auch ohne Salzsäurezusatz, indem schon durch blosses Stehen an der Luft die Vereinigung der beiden Substanzen erfolgt. Für jetzt kann nur constatirt werden, dass Säurezusatz den Verlauf der Reaction ausserordentlich beschleunigt, und die richtige Einsicht in diesen Process muss der späteren Forschung vorbehalten bleiben. Aehnlich wie die Salzsäure wirken auch Spuren von verdünnter Schwefel- oder Salpetersäure; Alkalien, und verdünnte Essigsäure sind dagegen unwirksam.

Diäthylidensulfoharnstoff. Während die beiden obigen Verbindungen die Eigenthümlichkeit der Aldehyde, zwei Amidmoleküle mit einander zu verketten, bestätigen, zeigt die folgende Substanz, dass dem Acetaldehyd die besondere Eigenschaft zukommt, die Wasserstoffe des Harnstoffs durch das Aethyliden zu substituiren, ohne dass dadurch zwei oder mehrere Harnstoffmoleküle condensirt werden.

Durch Erwärmen von Schwefelharnstoff mit Aldehyd in verschlossenen Gefässen hat Reynolds den Aethylidensulfoharnstoff: $\left.\begin{matrix} CS \\ C_2H_4 \\ H_2 \end{matrix}\right\} N_2$ dargestellt. Erwärmt man aber in einer Schale ziemlich concentrirte wässerige Lösungen von Sulfoharnstoff und Aldehydammoniak, so erstarrt die Flüssigkeit, sobald sie zu kochen beginnt, zu einem Krystallbrei von schwer löslichen kleinen Nadeln. Die von der Lauge abfiltrirten und mit kaltem Wasser ausgewaschenen Krystalle wurden aus grosser Menge 90 proc. Weingeist umkrystallisirt und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet. Die Analyse der Substanz zeigte, dass sie nach der Formel $C_5H_{11}N_2S$ zusammengesetzt ist.

| Es wurde gefunden: | | | | Die Formel $C_5H_{11}N_3S$ verlangt: | |
|---|---|---|---|---|---|
| C | 41.13 und | 41.66 Proc. | | C | 41.37 Proc. |
| H | 7.84 | 7.98 „ | | H | 7.51 „ |
| N | 28.77 | 28.69 „ | | N | 28.9 „ |
| S | 22.02 | 21.82 „ | | S | 22.06 „ |

Die Entstehung dieser Verbindung erfolgt demnach nach der Gleichung:

$$2(CH_3{-}{-}CHONH_3) + CSN_2H_4 = C_5H_{11}N_3S + 2H_2O + NH_3,$$

und man kann sie als eine Ammoniakverbindung des Diäthylidensulfoharnstoffs auffassen: $\left.\begin{matrix}CS\\(C_2H_4)_2\end{matrix}\right\}N_2\,NH_3$.

Diese Substanz ist nur wenig löslich in siedendem Wasser, noch weniger in heissem 90 proc. Alkohol, unlöslich in kaltem Alkohol und Aether. Ihre Lösungen haben einen intensiv bitteren Geschmack. Sie schmilzt bei 180° C. Beim fortgesetzten Kochen ihrer wässerigen Lösung zerfällt sie allmählich in Aldehyd, Sulfoharnstoff und Ammoniak. Viel rascher wird die Spaltung im obigen Sinne durch verdünnte Säuren bewirkt. Als in einem Versuche 20 g der Substanz in Wasser suspendirt und mit etwas mehr als der äquivalenten Menge Salzsäure auf dem Wasserbade erwärmt wurden, begann bei ungefähr 50° C. die Flüssigkeit sich zu lösen; es destillirte reiner Aldehyd über, und der auf dem Wasserbade verdunstete Rückstand bestand nur aus Salmiak und Sulfoharnstoff. Durch wiederholte Krystallisation aus absolutem Alkohol wurde der letztere von dem Salmiak getrennt und in das Platindoppelsalz übergeführt. Die Platinbestimmung ergab 42.92 Proc. Platin, während nach Reynolds [1]) die Platinverbindung des Sulfoharnstoffs 43.15 Proc. Platin verlangt.

Bern, im Februar 1874.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **150**, 234.

# Ueber das Guanamin

von

**M. Nencki.**

Ber. 7, 775. (Eingegangen am 8. Juni; verl. in der Sitzung von Herrn Oppenheim.)

Von nicht geringerem Interesse als die Reynold'sche Entdeckung, dass das trockene Rhodanammonium, auf 170° C. erhitzt, in den isomeren Sulfoharnstoff übergeht, ist die Beobachtung von Volhard und Delitsch, dass es nur längeren Erhitzens oder etwas höherer Temperatur bedarf, um aus dem Sulfoharnstoff das Guanidin zu gewinnen. Ohne Zweifel wird durch diese Untersuchungen die Bildungsweise der zuerst von Liebig aus dem Rhodanammonium gewonnenen Condensationsproducte des Kohlenstoffs mit dem Stickstoff aufgeklärt; wenn auch zwischen dem Sulfoharnstoff und dem letzten Condensationsproducte — dem Melam — ausser dem Guanidin noch eine Reihe intermediärer Substanzen gebildet werden, wie sie zum Theil vor Kurzem Claus[1]) beschrieben hat. Es scheint, als ob die nächste Umwandlung, die das rhodanwasserstoffsaure Guanidin erleidet, zur Bildung des Melamins führe. Wenigstens habe ich beobachtet, dass beim Durchleiten trockenen Chlorgases, während kurzer Zeit, durch das auf 200 bis 210° C. erhitzte Rhodanammonium neben Salmiak reichlich salzsaures Melamin gebildet wird. Auch lässt sich aus den Claus'schen Substanzen leicht das Melamin abspalten. Da nun sowohl Volhard als auch andere Forscher eingehendere Mittheilungen über die hierbei noch offenen Fragen in Aussicht stellten, so habe ich meine schon früher nach dieser Richtung hin angestellten Versuche aufgegeben und suchte hauptsächlich, durch die Beziehungen des Guanidins zu den thierischen Stoffwechselproducten angeregt, von dem ersteren ausgehend, auf synthetischem Wege zu Verbindungen zu gelangen, die namentlich dem Guanin oder der Harnsäuregruppe näher stehen könnten. — Gern hätte ich die Veröffentlichung der in obigem Sinne angedeuteten Versuche bis zu ihrer Vollendung verschoben, allein da die hierbei entstehenden Substanzen sehr zahlreich und verschiedenartig sind und deren Bearbeitung einen längeren Zeitraum erfordert, so will ich zunächst über die mit dem essigsauren Guanidin erzielten Resultate berichten und mir die Untersuchung der beim Erhitzen anderer Guanidinsalze auftretenden Producte vorbehalten.

Das aus dem reinen kohlensauren Guanidin dargestellte essigsaure Salz wurde auf dem Wasserbade getrocknet und in einem Fractionirkölbchen auf dem Sandbade erhitzt. Das Salz schmilzt zunächst zu einer schwach gelblichen Flüssigkeit, und unter allmählicher Steigerung der Temperatur destilliren zuerst etwas

[1]) Claus, Ber. 7, 233.

Wasser und Essigsäure über. Später wird reichlich Ammoniak entwickelt. Sobald die kochende Flüssigkeit 228 bis 230° C. erreicht hat, bleibt die Temperatur constant und zugleich zeigt ein im Halse des Kolbens befindliches Thermometer die Temperatur der übergehenden Dämpfe auf 170° C. constant an. Man erhält die siedende Flüssigkeit noch etwa 1/4 Stunde bei dieser Temperatur, lässt hierauf erkalten und zieht die Schmelze mit wenig heissem Wasser aus. So erhält man in geringer Quantität einen im Wasser unlöslichen amorphen Rückstand, während die grösste Masse sich in Wasser leicht auflöst und beim Erkalten zu einer Gallerte erstarrt. Diese Gallerte ist die essigsaure Verbindung eines neuen basischen Körpers, den ich Guanamin nennen will, und man braucht nur das abfiltrirte und von der Lauge abgepresste Salz durch verdünnte Kali- oder Natronlauge zu zersetzen, um die Base in freiem Zustande zu isoliren. Bei gut gelungener Operation erhielt ich aus 50 g kohlensauren Guanidins 10 g der neuen Substanz.

Das Guanamin hat die Zusammensetzung $C_4N_5H_7$ und ist eine sehr schwach alkalisch reagirende Base, die mit Säuren und Salzen leicht und schön krystallisirende Salze liefert. Sie ist in kaltem Wasser nur wenig löslich, sehr leicht dagegen in heissem, auch in Alkohol löst sie sich gut auf. Aus der wässerigen Lösung rasch abgekühlt, krystallisirt sie in kleinen perlmutterglänzenden Blättchen. Beim langsamen Erkalten bilden sich öfters mehrere Centimeter grosse blätterige Krystalle oder auch Nadeln des rhombischen Systems. Die Krystalle enthalten Krystallwasser, das sie jedoch schon an der Luft getrocknet verlieren. Die Analysen des bei 115° C. getrockneten Guanamins ergaben folgende Zahlen:

0.2357 g der Substanz gaben 0.333 g $CO_2$ und 0.1196 $H_2O$
0.2577 g der Substanz gaben 0.3606 g $CO_2$ und 0.1387 $H_2O$
0.1846 g der Substanz gaben 92.5 ccm N bei 12.5° und 715 mm Bst.

oder in 100 Theilen:

| | Versuch | | Theorie | |
|---|---|---|---|---|
| C | 38.53 Proc. | und 38.18 Proc. | $C_4$ | 38.4 Proc. |
| H | 5.72 „ | „ 5.97 „ | $H_7$ | 5.6 „ |
| N | 55.73 „ | | $N_5$ | 56.0 „ |

Salzsaures Guanamin. Zur Darstellung dieses Salzes löst man reines Guanamin in der nöthigen Menge verdünnter heisser Salzsäure. Aus der erkalteten Lauge krystallisirt das Salz in klinorhombischen Prismen und Tafeln, die sich leicht in heissem Wasser wieder lösen. Der Analyse zufolge entspricht ihre Zusammensetzung der Formel: $C_4N_5H_7HCl + 2H_2O$.

0.8297 der lufttrockenen Substanzen verloren bei 110° C. getrocknet 0.154 g, entsprechend 18.06 Proc. Wasser.

0.2356 g bei 110° C. getrockneter Substanz gaben 0.3344 g AgCl oder 21.68 Proc. Cl.

0.2492 g bei 110° C. getrocknet, gaben mit chromsaurem Blei und vorgelegtem metallischem Kupfer verbrannt 100.5 ccm feuchten N bei 18.5° C. und 716 mm Bst. oder 43.45 Proc. N.

Die Formel: $C_4N_5H_7HCl$ verlangt 21.96 Proc. Cl und 43.45 Proc. N. Ausserdem berechnet sich der Gehalt an Krystallwasser zu 18.22 Proc.

Das Platindoppelsalz: $(C_4N_5H_7)_2\ 2HCl.PtCl_4$, wurde erhalten durch Zusatz von Platinchlorid zu der mit Salzsäure angesäuerten alkoholischen Lösung der Base und Verdunsten des Alkohols über concentrirter Schwefelsäure. Es bildet einen gelben, in Wasser leicht löslichen krystallinischen Niederschlag. Die Platin- und Stickstoffbestimmung ergab: 29.66 Proc. Pt und 21.13 Proc. N.

Salpetersaures Guanamin: $C_4N_5H_7NO_3H$, erhalten durch Auflösen von Guanamin in verdünnter warmer Salpetersäure. Krystallisirt beim Erkalten der Lösung in dicken klinorhombischen Prismen, die in Wasser leicht löslich sind und kein Krystallwasser enthalten. Trocken erhitzt, zersetzt sich das Salz mit schwacher Verpuffung. Die vorsichtig ausgeführte Verbrennung des lufttrockenen Salzes mit chromsaurem Blei ergab folgende Zahlen:

0.2736 g der Substanz gaben 0.2566 g $CO_2$ und 0.1142 g $H_2O$.
0.1954 g der Substanz gaben 80 ccm N bei 17° C. und 715 mm Bst.

oder in Procenten:

| Versuch | Theorie |
|---|---|
| C 25.61 Proc. | $C_4$ 25.53 Proc. |
| H 4.64 „ | $H_8$ 4.25 „ |
| N 44.55 „ | $N_6$ 44.62 „ |
| | $O_3$ 25.60 „ |

Beim Vermischen warmer wässeriger Lösung von Guanamin mit salpetersaurem Silber erhielt ich zunächst einen weissen amorphen Niederschlag, der sich in der Wärme zum grössten Theile wieder löste. Aus der heiss filtrirten Lösung schieden sich nach dem Erkalten kleine rhombische Tafeln einer Verbindung aus, die, über $SO_4H_2$ getrocknet und analysirt, 25.74 Proc. Ag und 36.36 Proc. N enthielt. Danach ist die Zusammensetzung des Salzes: $(C_4N_5H_7)_2\ NO_3Ag$, welche Formel 25.71 Proc. Ag und 36.66 Proc. N verlangt.

Schwefelsaures Guanamin: $(C_4N_5H_7)_2\ SO_4H_2 + 2H_2O$. Aehnlich wie das salzsaure Salz dargestellt. Krystallisirt aus der warmen sauren Lösung in rhombischen Blättchen, die im $H_2O$ sehr leicht löslich sind. 0.8357 g der lufttrockenen Substanz verloren bei 110° C. 0.076 g Wasser oder 9.03 Proc. Die obige Formel verlangt 9.37 Proc. Wasser. Ferner 0.302 g der bei 110° C. getrockneten Substanz gaben 0.1968 g $SO_4Ba$ oder 22.37 Proc. $SO_3$. Nach der Formel $(C_4N_5H_7)_2\ SO_4H_2$ berechnet sich der Gehalt an $SO_3$ zu 22.98 Proc.

Das essigsaure Guanamin, wie es durch Erhitzen des essigsauren Guanadins erhalten wurde, habe ich nach einmaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser kurz über $SO_4H_2$ getrocknet und darin den Stickstoffgehalt zu 45.1 Proc. gefunden. Diese Zahlen stimmen auf die Formel eines basischen Salzes von der Zusammensetzung: $(C_4N_5H_7)_2\ C_2H_4O_2$, die 45.16 Proc. N verlangt. Das essigsaure Guanamin verliert übrigens bei 100° C. getrocknet Essigsäure, und die Identität des aus der Schmelze gewonnenen mit dem durch Auflösen des Guanamins in verdünnter Essigsäure dargestellten Salzes wurde nur durch die Uebereinstimmung der sämmtlichen Eigenschaften festgestellt. — Der empirischen Zusammensetzung nach enthält das Guanamin vier Mal die Elemente des Cyanwasserstoffs + Ammoniak: $(CNH)_4 + NH_3 = C_4N_5H_7$ und unterscheidet sich von dem Guanin durch ein Minus der

Elemente der Cyansäure und ein Plus der des Ammoniaks. $C_4H_5N_7 + CNOH = C_5N_6H_5O + NH_3$. Von verdünnter Salpetersäure wird es leicht oxydirt; concentrirte Säure giebt damit ein tief gelb gefärbtes Product, das aus der verdünnten Lösung durch $NH_3$ in amorphen Flocken gefällt wird. Mit starker Kalilauge gekocht, zersetzt es sich sehr langsam unter Entwickelung von Ammoniak. Trocken erhitzt, schmilzt es zu einer gelblichen Flüssigkeit und sublimirt zum Theil unverändert. Das Guanamin ist geschmack- und geruchlos, auch ist es nicht giftig. 2 g der Substanz verzehrte ein Hund von 10 kg Körpergewicht mit seiner übrigen Nahrung ohne jede darauf folgende toxische Erscheinung. Der darauf gelassene Harn, mit basischem Bleiacetat genau ausgefällt, filtrirt und von überschüssigem Blei durch $SH_2$ befreit, setzte beim langsamen Verdunsten auf dem Wasserbade Krystalle ab, die in verdünnter Natronlauge gelöst durch die Löslichkeitsverhältnisse und Krystallform als Guanamin erkannt wurden. Danach passirt das Guanamin, wenigstens zum grössten Theil, den Thierkörper unverändert. — Der beim Erhitzen des essigsauren Guanidins erhaltene, in heissem Wasser unlösliche Rückstand ist leicht löslich in fixen Alkalien und Mineralsäuren; aus den letzteren Lösungen kann er durch Ammoniak und aus den ersteren durch Essigsäure in weissen amorphen Flocken gefällt werden. In diesem Verhalten hat die Substanz grosse Aehnlichkeit mit dem Ammelin[1]), unterscheidet sich aber von dem letzteren wesentlich durch den Umstand, dass sie sich aus der schwefelsauren oder salpetersauren Lösung amorph ausscheidet und schon mit verdünnter Salpetersäure erwärmt unter lebhafter Gasentwickelung angegriffen wird. Nur beim Verdunsten der salzsauren Lösung auf dem Wasserbade konnte ich eine in Nadeln krystallisirende Verbindung erhalten.

Aus dem dickflüssigen Destillat, das hauptsächlich aus essigsaurem Ammoniak besteht, scheiden sich schon während des Erhitzens und noch mehr nach dem Abkühlen der Flüssigkeit rhombische Krystalle eines neuen Körpers aus, der mit Kali erwärmt unter Ammoniakentwickelung in das Guanamin übergeht. Die Zusammensetzung und die Eigenschaften der beiden Substanzen werde ich demnächst ausführlich beschreiben.

[1]) Liebig, Ann. Chem. Pharm. **10**, 24.

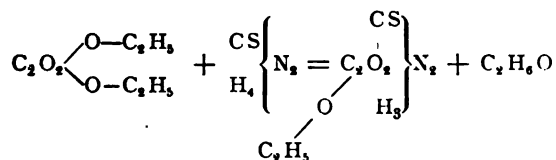
# Ueber Sulfoharnstoff-Oxalsäureäther

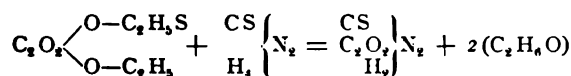
von

**M. Nencki.**

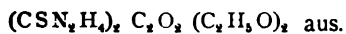
Ber. 7, 779. (Eingegangen am 8. Juni; verlesen in der Sitzung von Herrn Oppenheim.)

Die Leichtigkeit, mit welcher sich die Wasserstoffatome des Sulfoharnstoffs durch andere organische Radicale ersetzen lassen, veranlasste mich, die Einwirkung des Oxalsäureäthers auf den Sulfoharnstoff zu untersuchen. Es war zu erwarten, dass beim trockenen Erhitzen dieser beiden Substanzen unter Bildung von einem oder zwei Alkoholmolekülen der Aethyläther der Sulfoxalursäure

$$C_2O_2\left\langle\begin{matrix}O-C_2H_5\\O-C_2H_5\end{matrix}\right. + \left.\begin{matrix}CS\\H_4\end{matrix}\right\}N_2 = \left.\begin{matrix}CS\\C_2O_2\\O(C_2H_5)\quad H_3\end{matrix}\right\}N_2 + C_2H_6O$$

respective die Sulfoparabansäure

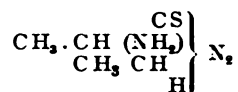
$$C_2O_2\left\langle\begin{matrix}O-C_2H_5S\\O-C_2H_5\end{matrix}\right. + \left.\begin{matrix}CS\\H_4\end{matrix}\right\}N_2 = \left.\begin{matrix}CS\\C_2O_2\\H_2\end{matrix}\right\}N_2 + 2(C_2H_6O)$$

entstehen würde.

Namentlich hätte dann die Entschwefelung der so erhaltenen Substanzen manches Interessante dargeboten. Eine wässerige oder alkoholische Lösung von Sulfoharnstoff, mit Oxalsäureäther versetzt, scheidet sofort wohl ausgebildete klinorhombische Prismen einer Molekularverbindung von Sulfoharnstoff mit Oxalsäureäther von der Zusammensetzung

$$(CSN_2H_4)_2\ C_2O_2\ (C_2H_5O)_2 \text{ aus.}$$

Aus Alkohol lassen sich diese Krystalle ohne Zersetzung umkrystallisiren, durch kochendes Wasser werden sie jedoch rasch in ihre Componenten zerlegt. Ammoniak zerlegt sie ebenfalls schon in der Kälte unter Bildung von Oxamid. Beim Erwärmen mit Aldehydammoniak bildet sich neben Oxamid die früher von mir beschriebene Ammoniakverbindung des Diäthylidensulfoharnstoffs[1]), $C_5H_{11}N_3S$, die aber, wenn

[1]) Ber. 7, 162. — Dieser Band.

man das Aldehydammoniak als eine Oxyamidoverbindung auffassen will, auch folgende Constitution haben könnte:

$$\left.\begin{array}{r} CS \\ CH_3 . CH\ (NH_2) \\ CH_3\ CH \\ H \end{array}\right\} N_2$$

also ein Monoamidodiäthylidensulfoharnstoff.

Die Elementaranalyse des lufttrockenen Sulfoharnstoffoxalsäureäthers ergab folgende Zahlen:

| Versuch | | | Theorie | |
|---|---|---|---|---|
| C | 31.88 und 32.01 Proc. | | $C_8$ | 32.21 Proc. |
| H | 6.38 „ | 6.42 „ | $H_{18}$ | 6.04 „ |
| N | 18.89 | — | $N_4$ | 18.8 „ |
| | | | $S_2$ | 21.47 „ |
| | | | $O_4$ | 21.47 „ |

Trocken erhitzt, schmilzt diese Verbindung ungefähr bei 150° C. und trennt sich in zwei Flüssigkeitsschichten, von denen die untere Sulfoharnstoff, die obere Oxalsäureäther ist. Es gelang mir nicht, auch bei höheren Temperaturen auf diesem Wege die Synthese der Sulfoxalur- oder der Sulfoparabansäure zu realisiren.

Bern, im Mai 1874.

---

# Ueber die Guanidinderivate

von

**M. Nencki.**

## Zweite Mittheilung.

Ber. 7, 1584. (Eingegangen am 21. November; v[illegible]
in der Sitzung von Herrn Oppenheim.)

In meiner ersten Mittheilung über das durch Erhitzen des essigsauren Guanid[illegible] entstehende Guanamin habe ich bemerkt, dass beim Erhitzen auch anderer Guanid[illegible]salze ebenfalls neue Producte auftreten. Es schien mir wünschenswerth, zunäc[illegible] die Zusammensetzung und Eigenschaften dieser Substanzen festzustellen und e[illegible] später ihr Verhalten gegenüber den oxydirenden Agentien zu untersuchen. Die [illegible] jetzt hierüber erzielten Resultate sollen der Gegenstand der gegenwärtigen Mittheilung sein.

Formoguanamin. Aehnlich wie das Guanamin und durch eine ebenso glatte Reaction entsteht beim trockenen Erhitzen des ameisensauren Guanidins eine neue Base, die ich Formoguanamin nennen werde. Zu ihrer Darstellung wird reines kohlensaures Guanidin in concentrirter, wässeriger Ameisensäure aufgelöst und auf dem Wasserbade getrocknet, bis die Flüssigkeit eine ziemlich dickliche Consistenz angenommen hat. Hierauf wird sie in einem offenen Kolben auf dem Sandbade erwärmt. Die Temperatur steigt allmählich bis auf 200° C., wo dann die lebhafte Gasentwickelung und namentlich reichliche Bildung von Ammoniak die Zersetzung des ameisensauren Guanidins anzeigt. Man erhält die Temperatur der Schmelze genau auf 200° C. so lange, bis die Flüssigkeit sich trübt und die Ausscheidung von Krystallen eintritt, deren Menge bei fortgesetztem Erwärmen sich noch vermehrt. Nach wenigen Minuten lässt man erkalten und versetzt die Schmelze mit dem gleichen Volumen kalten Wassers. Es scheidet sich dann die Base als gelbweisser, körniger Niederschlag aus, während das unzersetzte ameisensaure Guanidin in Lösung geht. Die abgeschiedene Base wird nun am zweckmässigsten in der nöthigen Menge heissen Wassers aufgelöst und durch Zusatz einer gesättigten Oxalsäurelösung in das in kaltem Wasser unlösliche oxalsaure Salz verwandelt. Aus diesem Salze wird durch Kali- oder Natronlauge die Base in weissen rhombischen Nadeln abgeschieden. Aus 56 g ameisensauren Guanidins wurden nach diesem Verfahren 17.32 g des oxalsauren Salzes oder 9.06 g der freien Base erhalten, was etwa 50 Proc. der theoretischen Ausbeute entspricht. Das Formoguanamin hat die Zusammensetzung $C_3H_5N_5$ und ist in seinen Eigenschaften dem Guanamin, von dem es sich nur durch die $CH_2$-Gruppe unterscheidet, ziemlich ähnlich. Es ist eine schwach alkalisch reagirende Base, leicht löslich in heissem Wasser und nur wenig in Alkohol und bildet mit Säuren in Wasser leicht lösliche, krystallisirende Salze. Trocken im Reagenzröhrchen erhitzt, schmilzt es und sublimirt, jedoch unter theilweiser Verkohlung. Im capillaren Röhrchen im Schwefelsäurebade erhitzt, war die Substanz noch bei 350° C. nicht geschmolzen. Das Guanamin aus dem essigsauren Guanidin schmilzt bei 265° C. (uncorrigirt). Das nach obigem Verfahren dargestellte und zweimal aus heissem Wasser umkrystallisirte Formoguanamin krystallisirt wasserfrei. Die über Schwefelsäure getrocknete Substanz verliert bei 120° C. im Luftbade nichts an Gewicht.

Bei der Analyse erhielt ich folgende Zahlen:

| Versuch 1 | Versuch 2 | Versuch 3 | Theorie |
|---|---|---|---|
| C 32.16 Proc. | C 32.51 Proc. | C 32.40 Proc. | $C_3$ 32.43 Proc. |
| H 4.52 „ | H 4.70 „ | H 4.66 „ | $H_5$ 4.51 „ |
| N 62.8 „ | N 62.8 „ | — | $N_5$ 63.06 „ |

Oben wurde erwähnt, dass das Formoguanamin sich aus der Schmelze zunächst als körniger Niederschlag abscheidet. In der Vermuthung, dass vielleicht erst durch die Einwirkung des Alkalis aus diesem Niederschlage das Formoguanamin entstehe, habe ich Analysen von verschiedenen Präparaten dieser Substanz ausgeführt, nachdem sie bloss aus Wasser umkrystallisirt worden, ohne vorheriges Erwärmen mit Natronlauge. Ich erhielt jedoch dabei stets Zahlen, die mit der Formel des Formoguanamins

genau übereinstimmten. So wurde gefunden nach einmaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser: C: 31.91, H: 4.7, N: 63.4 Proc.

Der gleiche körnige Niederschlag, von einer andern Darstellung herrührend, ergab nach zweimaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser bei der Analyse: C: 32.0, H: 4.87, N: 61.7 Proc.

In den charakteristischen rhombischen Nadeln habe ich das Formoguanamin erst nach dem Umkrystallisiren aus warmer Kali- oder Natronlösung erhalten, oder durch Auflösung des körnigen Niederschlages mit verdünnten Säuren und Fällen mit fixen Alkalien. Die Bildung dieser Base aus dem ameisensauren Guanidin eignet sich sehr zu einer Demonstration. Man kocht eine Auflösung von Guanidin in der nöthigen Quantität Ameisensäure in einem Reagenzröhrchen so lange ein, bis die Ammoniakentwickelung und beginnende Trübung die Entstehung der Base anzeigt. Die erkaltete Schmelze wird in der nöthigen Quantität verdünnter, heisser Natronlauge gelöst, worauf sich beim Erkalten die Base in schönen rhombischen Nadeln abscheidet. Die Salze des Formoguanamins werden erhalten durch Auflösen der Base in überschüssiger, heisser Lösung der Säure und scheiden sich beim Erkalten krystallinisch aus. Sie sind mit Ausnahme des oxalsauren Salzes in Wasser leicht löslich. Folgende Salze des Formoguanamins habe ich dargestellt und analysirt:

Das salpetersaure Salz $C_3N_5H_5NO_3H$ krystallisirt in rhombischen Nadeln und Prismen. Das über Schwefelsäure getrocknete Salz ergab bei der Analyse folgende Zahlen:

| Versuch | Theorie |
|---|---|
| C 20.34 Proc. | $C_3$ 20.67 Proc. |
| H 3.63 „ | $H_6$ 3.45 „ |
| N 48.39 „ | $N_6$ 48.27 „ |
| | $O_3$ 27.58 „ |

Das salzsaure Formoguanamin ist in Wasser leichter löslich, als das vorhergehende und krystallisirt wasserfrei in rhombischen Blättchen. Die Chlor- und Stickstoffbestimmung ergab darin 23.6 Proc. Cl und 47.38 Proc. N. Die Formel $C_3N_5H_5HCl$ verlangt 24.04 Proc. Cl und 47.40 Proc. N.

Ich habe nur ein einziges Platindoppelsalz von der Zusammensetzung ($C_3N_5H_5$)$_3$ 2 (HCl) $PtCl_4$ erhalten können. Dieses Salz krystallisirt in schönen rhombischen zu Drusen vereinigten Säulen, wenn man eine warme alkoholische Lösung des salzsauren Guanamins mit concentrirter alkoholischer Platinchloridlösung im Ueberschusse versetzt. Die vollständige Analyse der über Schwefelsäure bis zu constantem Gewichte getrockneten Substanz ergab folgende Zahlen:

| Versuch | Theorie |
|---|---|
| C 14.06 Proc. | $C_9$ 14.47 Proc. |
| H 2.11 „ | $H_{17}$ 2.27 „ |
| N 27.5 „ | $N_{15}$ 28.02 „ |
| Pt 26.3 u. 26.1 Proc. | Pt 26.3 „ |
| | $Cl_6$ 29.21 „ |

Charakteristisch für die Base ist das nur wenig in heissem, in kaltem Wasser dagegen ganz unlösliche oxalsaure Salz. Es wird erhalten durch Vermischen warmer Lösungen der beiden Substanzen und scheidet sich als körnig-krystallinischer

Niederschlag wasserfrei aus. Eine Oxalsäurebestimmung ergab darin 44.56 Proc. $C_2H_2O_4$. Die Formel $C_3N_5H_5 . C_2H_2O_4$ verlangt 44.77 Proc. $C_2H_2O_4$.

Chloressigsaures Guanidin. Es war mir von Interesse, das Verhalten des chloressigsauren Guanidins beim trockenen Erhitzen zu prüfen. Man konnte erwarten, dass das bei der Condensation des Guanidins zu Guanamin frei werdende Ammoniak das Chloratom der Chloressigsäure entziehen werde, unter welchen Verhältnissen ein Glycolylguanamin entstehen könnte.

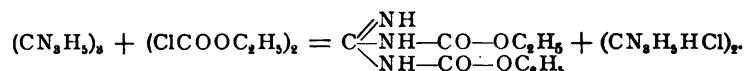
Meine Erwartung hat sich jedoch nicht bestätigt. Chloressigsaures Guanidin, bis auf 170° C. erhitzt, zersetzt sich unter starker Verkohlung. Nach einem halbstündigen Erhitzen wurde die erkaltete Schmelze mit absolutem Alkohol ausgezogen, wobei sich Salmiak ausgeschieden hat. Nach Verdunsten des Alkohols verblieb ein gelblicher Syrup, der nach vielfachem Umkrystallisiren aus absolutem Alkohol unter Zusatz von Thierkohle schliesslich ziemlich farblos wurde. Nach längerem Stehen über Schwefelsäure schieden sich daraus zerfliessliche Krystalle aus, die vollständig das Aussehen des unveränderten chloressigsauren Guanidins hatten.

Eine Probe der Substanz, mit verdünnter Salpetersäure versetzt, erzeugte einen krystallinischen Niederschlag, der ebenfalls das Aussehen des salpetersauren Guanidins hatte. Es wurde nun auch die übrige Portion in wenig Wasser gelöst und mit verdünnter Salpetersäure versetzt. Die abgeschiedenen Krystalle, im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet, ergaben, mit chromsaurem Blei verbrannt, mit der Formel des salpetersauren Guanidins übereinstimmende Zahlen:

| Es wurde gefunden: | Nach der Formel $CN_3H_5NO_3H$ berechnet: |
|---|---|
| C 9.97 Proc. | C 9.83 Proc. |
| H 5.12 „ | H 4.98 „ |
| N 45.75 „ | N 45.9 „ |

Dass das oxalsaure und kohlensaure Guanidin, auf höhere Temperaturen erhitzt, unter Ammoniakentwickelung ebenfalls Condensationsproducte liefern, habe ich beobachtet, jedoch diese amorphen, in heissem Wasser nur wenig löslichen Substanzen noch nicht näher untersucht. Sie haben grosse Aehnlichkeit mit derjenigen Substanz, die ich als Nebenproduct bei der Darstellung des Guanamins aus dem essigsauren Guanidin bekommen habe, und mit deren genauerer Bearbeitung ich beschäftigt bin. Auch das ameisensaure Guanidin, höher als auf 200° C. oder lange bei dieser Temperatur erhitzt, liefert ebenfalls einen amorphen, in Wasser schwer löslichen Rückstand. Bei dieser Gelegenheit konnte ich nicht umhin, die Einwirkung des Chlorkohlensäureäthers auf das Guanidin in den Kreis meiner Untersuchungen zu ziehen. Die Aussicht, dass der bei dieser Reaction entstehende Guanidinkohlensäureäther eine geeignetere Substanz zur Realisirung meines ursprünglichen Planes sein könnte, nämlich zur Synthese von Verbindungen aus der Guanin- oder der Harnsäuregruppe, war die hauptsächlichste Anregung dazu. Um das freie Guanidin zu erhalten, habe ich das kohlensaure Salz in möglichst wenig kaltem Wasser gelöst, mit der äquivalenten Menge Aetzkali versetzt und hierauf durch Zusatz von viel absolutem Alkohol das entstandene kohlensaure Kalium gefällt, während das Guanidin in die alkoholische Lösung überging, welche abgegossen und auf dem

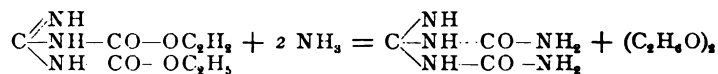
Wasserbade bis auf ein kleines Volumen verdunstet wurde. Zu der so erhaltenen, stark alkalischen Flüssigkeit setzte ich nun in einem Kölbchen allmählich Chlorkohlensäureäther hinzu. Es erfolgt sehr bald eine heftige Erwärmung, so dass es nothwendig wird, zu kühlen, und es scheidet sich das neue Product in kleinen, weissen Nadeln aus, deren Menge nach dem Erkalten sich noch vermehrt. Die hier entstehende neue Substanz ist der Guanidodikohlensäureäther, und ihre Bildung kann durch folgende Gleichung veranschaulicht werden:

$$(CN_3H_5)_3 + (ClCOOC_2H_5)_2 = C\begin{cases} NH \\ NH-CO-OC_2H_5 \\ NH-CO-OC_2H_5 \end{cases} + (CN_3H_5HCl)_2.$$

Ich habe in der That in einer glatt verlaufenen Reaction ausser dieser Substanz und dem salzsauren Guanidin keine anderen Spaltungsproducte gefunden. Die von dem Guanidodikohlensäureäther abfiltrirte Lauge, auf dem Wasserbade verdunstet, hinterliess zerfliessliche, in Alkohol leicht lösliche Krystalle, die nach zweimaligem Umkrystallisiren aus Alkohol in das Platinsalz übergeführt wurden. 0.4687 g des über Schwefelsäure getrockneten Platinsalzes enthielten 0.1738 g oder 37.10 Proc. Pt. Die Formel $(CN_3H_5)_2$ 2 $HClPtCl_4$ verlangt 37.08 Proc. Pt.

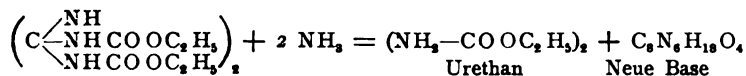
Der Guanidodikohlensäureäther ist in Wasser unlöslich, leicht löslich in absolutem Alkohol und Aether; auch in verdünntem Weingeist ist er, namentlich in der Wärme, ziemlich löslich und lässt sich daraus am besten umkrystallisiren. Im capillaren Röhrchen schmilzt er bei 162° C. (uncorrigirt). Es genügt, den so erhaltenen Guanidodikohlensäureäther nur einmal aus Weingeist umzukrystallisiren, um ihn in chemisch reinem Zustande zu erhalten. Die Analyse der über Schwefelsäure getrockneten Substanz ergab folgende Zahlen:

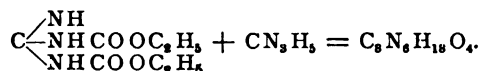
| Versuch | Theorie |
|---|---|
| C 41.35 Proc. | $C_7$ 41.38 Proc. |
| H 6.58 „ | $H_{13}$ 6.40 „ |
| N 20.5 u. 20.7 Proc. | $N_3$ 20.68 „ |
| | $O_4$ 31.54 „ |

Von verdünnter Schwefel- oder Salzsäure wird dieser Körper leicht zersetzt. Interessant ist sein Verhalten gegenüber Ammoniak. In der Absicht, aus dem Aether das Amid nach der Gleichung:

$$C\begin{cases} NH \\ NH-CO-OC_2H_5 \\ NH-CO-OC_2H_5 \end{cases} + 2\ NH_3 = C\begin{cases} NH \\ NH-CO-NH_2 \\ NH-CO-NH_2 \end{cases} + (C_2H_6O)_2$$

darzustellen, wurden zwei Gramm der Substanz mit einer bei 15° C. gesättigten alkoholischen Lösung von Ammoniak in zugeschmolzenem Rohre sechs Stunden lang auf 100° C. erhitzt. Der Röhreninhalt, auf dem Wasserbade verdunstet, hinterliess eine dickliche, stark alkalische Flüssigkeit, die nach Wasserzusatz zu einem Krystallbrei erstarrte. Die sowohl aus dem Wasser, als auch aus Alkohol durch Umkrystallisiren gereinigte Substanz behielt stets ihre stark alkalische Reaction und liess durch die schön krystallisirenden Verbindungen mit den Säuren ihren basischen Charakter leicht erkennen. Die Analysen dieser Base und ihrer Salze gestatteten auch sehr bald Einblick in die

Zersetzung des Guanidodikohlensäureäthers unter dem Einflusse von Ammoniak. Sie lässt sich durch folgende Gleichung veranschaulichen:

$$\left(C\begin{matrix} \diagup NH \\ -NHCOOC_2H_5 \\ \diagdown NHCOOC_2H_5 \end{matrix}\right)_2 + 2\,NH_3 = \underset{\text{Urethan}}{(NH_2-COOC_2H_5)_2} + \underset{\text{Neue Base}}{C_8N_6H_{18}O_4}$$

Die Entstehung dieser neuen Substanz, die ich Guanolin nennen werde, beruht demnach auf einer Addition des Guanidins zu Guanidodikohlensäureäther:

$$C\begin{matrix} \diagup NH \\ -NHCOOC_2H_5 \\ \diagdown NHCOOC_2H_5 \end{matrix} + CN_3H_5 = C_8N_6H_{18}O_4.$$

Das Guanolin krystallisirt aus wässerigen oder weingeistigen Lösungen in blätterigen Krystallen des rhombischen Systems, welche die Zusammensetzung: $C_3N_6H_{18}O_4 + H_2O$ haben. Bei 100° C. getrocknet, verliert die Substanz ihr Krystallwasser. In Wasser und Alkohol ist es leicht löslich, nur sehr wenig in Aether. Das ein Molekül Wasser enthaltende Guanolin schmilzt im capillaren Röhrchen genau bei 100° C.; die wasserfreie Base aber schmolz zwischen 114 und 115° C. Ich habe übrigens die Bildung dieser Base beobachtet, als ich, um freies Guanidin darzustellen, concentrirte wässerige Lösung des kohlensauren Salzes mit Aetzkalk unter gelinder Erwärmung digerirte. Es wird dabei stets etwas Guanidin unter Freiwerden von Ammoniak zersetzt. Wird eine solche Flüssigkeit von dem Kaliumcarbonate abfiltrirt und mit Chlorkohlensäureäther versetzt, so erhält man nicht den Guanidodikohlensäureäther, sondern in Wasser lösliche, weisse Nadeln einer Substanz, die nach dem Umkrystallisiren sich als die Base $C_8N_6H_{18}O_4$ erkennen liess.

Bei der Verbrennung der über Schwefelsäure getrockneten Substanz erhielt ich folgende Zahlen:

| Es wurde gefunden: | Die Formel $C_8N_6H_{18}O_4 + H_2O$ verlangt: |
|---|---|
| C 34.16 und 34.23 Proc. | $C_8$ 34.28 Proc. |
| H 7.27 „ 7.21 „ | $H_{20}$ 7.14 „ |
| N 29.7 Proc. | $N_6$ 30.00 „ |
| | $O_5$ 28.6 „ |

Ferner verloren 0.7135 g desselben Präparates, bei 100° C. bis zu constantem Gewicht getrocknet, 0.0477 g Wasser oder 6.68 Proc. und 0.2229 der bei 100° C. getrockneten Substanz gaben 0.301 g $CO_2$ und 0.1372 g $H_2O$ oder 36.80 Proc. C und 6.83 Proc. H. Die Formel $C_3N_6H_{18}O_4$ verlangt 36.64 Proc. C und 6.87 Proc. H. Der nach der Formel $C_3N_6H_{18}O_4 + H_2O$ berechnete Krystallwassergehalt beträgt 6.43 Proc.

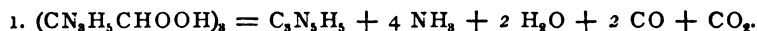
Charakteristisch für diese Base ist das in rhomboëdrischen Krystallen sich ausscheidende Salz aus einer Lösung der Base in wenig warmer, verdünnter Schwefelsäure.

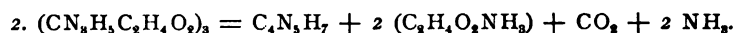
Das Salz hat die Zusammensetzung $C_3N_6H_{18}O_4SO_4H_2$, wie aus folgenden Analysen hervorgeht: 0.3307 g des lufttrockenen schwefelsauren Salzes gaben 0.2154 $BaSO_4$ oder 27.36 Proc. $SO_4H_2$, und 0.2206 g gaben 47 ccm N-Gas bei 15° C. und 718 Brm. oder 23.48 Proc. N. Die obige Formel verlangt: 27.22 Proc. $SO_4H_2$ und 23.33 Proc. N.

Das salpetersaure Salz des Guanolins krystallisirt in rhombischen Säulen und ist in Wasser weniger löslich als das schwefelsaure Salz. Das Platindoppelsalz, gewonnen durch Fällung der alkoholischen Lösung des salzsauren Salzes mit alkoholischem Platinchlorid, hat die Zusammensetzung $C_8N_6H_{18}O_4\ 2\ HClPtCl_4$. Das über Schwefelsäure getrocknete Salz enthielt 12.8 Proc. N und 29.28 Proc. Pt. Die obige Formel verlangt 12.44 Proc. N und 29.32 Proc. Pt. Betrachtet man nun die Bildungsweise des Formo- und des Acetoguanamins, so ist es nicht zu verkennen, dass ihre Entstehung aus dem Guanidin nur durch Abspaltung der Amidogruppen aus dem letzteren möglich ist. Die dadurch frei gewordenen Kohlenstoffaffinitäten können sich dann gegenseitig binden, und so kommen diese Verbindungen zu Stande, welche kohlenstoffreicher sind, als das Guanidin.

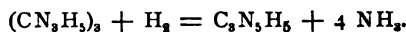
Nachdem ich mich bei den Darstellungen des Formoguanamins überzeugte, dass dabei Wasser, Kohlensäure, Ammoniak und ein mit bläulicher Flamme brennendes Gas, also anscheinend Kohlenoxyd, als Spaltungsproducte auftreten, habe ich in einem besonders angestellten Versuche die beim Erhitzen des ameisensauren Guanidins auf 200° C. gasförmig auftretenden Substanzen zunächst durch mit Bimssteinstückchen gefüllte Röhren, hierauf durch Aetzkalk- und Kaliröhren und schliesslich durch einen mit concentrirter Schwefelsäure gefüllten Kugelapparat passiren lassen. So wurde Wasser, Kohlensäure und Ammoniak vollständig zurückgehalten. Das aus dem Apparate entweichende, mit blauer Flamme brennende Gas, im Eudiometer über Quecksilber aufgefangen, wurde von concentrirtem Kupferchlorür vollständig absorbirt. Das Gas war demnach nur reines Kohlenoxyd.

Ohne Zweifel geschieht die Zersetzung des ameisensauren Guanidins bei 200° C. nach folgender Gleichung:

$$1.\ (CN_3H_5CHOOH)_3 = C_3N_5H_5 + 4\ NH_3 + 2\ H_2O + 2\ CO + CO_2.$$

Die Zersetzung des essigsauren Guanidins aber bei 230° C., wo neben dem Acetoguanamin hauptsächlich essigsaures Ammoniak, Ammoniak und Kohlensäure gebildet werden, geht folgendermaassen vor sich:

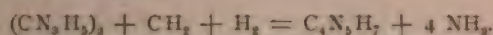
$$2.\ (CN_3H_5C_2H_4O_2)_3 = C_4N_5H_7 + 2\ (C_2H_4O_2NH_3) + CO_2 + 2\ NH_3.$$

Das in geringer Quantität bei der Bildung des Acetoguanamins auftretende Wasser gehört einer secundären Zersetzung an, indem bei der hohen Temperatur aus dem essigsauren Ammoniak Acetamid und Wasser sich bilden.

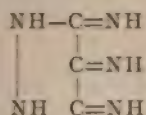
Noch habe ich zu erwähnen, dass ich beim Erhitzen des ameisen- und essigsauren Guanidins schon unter 200° C. das Entweichen der Ameisen- resp. Essigsäure in geringer Quantität bemerkte, was mir auf theilweiser Dissociation der betreffenden Salze zu beruhen scheint. Aus den obigen Gleichungen ist es auch leicht zu erkennen, welchen Antheil die beiden Säuren an der Bildung des Formo- resp. Acetoguanamins haben. So werden in der Gleichung 1. zwei Moleküle der Ameisensäure geradezu in Wasser und Kohlenoxyd gespalten. Das dritte aber zerfällt in $CO_2$ und $H_2$, indem die beiden Wasserstoffatome zur vollständigen Umwandlung der Amidogruppen des Guanidins zu Ammoniak erforderlich sind:

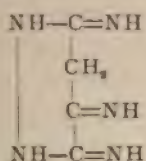
$$(CN_3H_5)_3 + H_2 = C_3N_5H_5 + 4\ NH_3.$$

Eine durchaus analoge Rolle hat die Essigsäure bei der Bildung des Aceto-

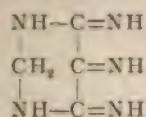
guanamins. Während zwei Moleküle der Säure unverändert als Ammoniaksalz auftreten, zerfällt das dritte in $CO_2 + CH_2 + H_2$.

Auch hier dienen die beiden Wasserstoffatome zur Ueberführung zweier Amidogruppen in Ammoniak; das gleichzeitig auftretende Methylen aber tritt in das Molekül der entstehenden Base selbst ein:

$$(CN_3H_5)_3 + CH_2 + H_2 = C_4N_5H_7 + 4\ NH_3.$$

Es ist klar, dass, um die molekulare Structur dieser Substanzen zu erkennen, ihr Verhalten gegen Reagentien und ihre Spaltungsproducte nothwendig zuerst erforscht sein müssen. Gestützt indessen auf die eben entwickelte Entstehungsgleichung dieser Verbindungen, kann ich nicht umhin, hierüber schon jetzt meine Ansicht auszusprechen. So glaube ich, dass im Molekül des Formoguanamins die drei Kohlenstoffatome durch je eine Valenz an einander gebunden sind, während die übrigen Valenzen durch die zweiwerthigen Imidreste vertreten sind, etwa nach folgendem Schema:

```
NH—C=NH
|   |
|   C=NH
|   |
NH  C=NH
```

Das Acetoguanamin, welches sich von dem Formoguanamin nur durch die $CH_2$-Gruppe unterscheidet, hat möglicherweise folgende Structur:

```
NH—C=NH
|   |
|   CH2
|   |
|   C=NH
|   |
NH—C=NH
```

oder auch, und was wahrscheinlicher ist, tritt das Methylen an die nach Art der Hydroazosubstanzen sich gegenseitig bindenden Imidogruppen. In dem Falle wäre die Constitution des Acetoguanamins folgende:

```
NH—C=NH
|   |
CH2 C=NH
|   |
NH—C=NH
```

Nach allem Vorhergegangenen beruht die Entstehung dieser beiden Basen auf einer organischen Synthese, die unter den bekannten synthetischen Methoden zur Darstellung kohlenstoffreicherer Verbindungen kein Analogon hat. Aehnlich wie bei der so vielfach angewandten auf dem Wasseraustritt beruhenden Synthese von Kohlenstoffverbindungen, entstehen hier aus dem Guanidin, durch Austritt der Amidogruppen in Form von Ammoniak und der darauf folgenden gegenseitigen Bindung der frei gewordenen Kohlenstoffvalenzen, kohlenstoffreichere Verbindungen, wie das Formoguanamin mit drei und das Acetoguanamin mit vier Kohlenstoffatomen im Molekül.

---

# Ueber die Harnfarbstoffe aus der Indigogruppe und über die Pankreasverdauung

von

**M. Nencki.**

Ber. 7, 1593. (Eingegangen am 21. November; verl. in der Sitzung von Herrn Oppenheim.)

Durch die Beobachtung R. Maly's[1]), dass der Gallenfarbstoff, das Bilirubin, mit Natriumamalgam in alkalischer Lösung behandelt, in ein anderes Pigment — das Hydrobilirubin, eine amorphe, braunrothe, in verdünnten Alkalien mit gelber Farbe lösliche Substanz — übergeht, ist die Ursache der normalen gelben Färbung des Harnes erklärt. Es ist nicht zu bezweifeln, dass diese von Maly entdeckte Substanz mit dem von Jaffé als Urobilin bezeichneten Farbstoffe des Harnes, von welchem die gelbe Farbe desselben herrührt, identisch ist. Das Vorkommen dieses Farbstoffes im Harne lässt sich danach sehr einfach erklären. Der Wasserstoff der Darmgase reducirt das mit der Galle ergossene Bilirubin zu Hydrobilirubin, welches letztere zum Theil mit den Excrementen entleert, zum Theil aber resorbirt und, ohne weitere Veränderungen im Blute zu erleiden, durch die Nieren ausgeschieden wird. Ausser dem Urobilin kann aus dem Harn noch ein zweiter Farbstoff isolirt werden, durch Erwärmen desselben mit Mineralsäuren. Es ist dies das Indigblau, welches nach den Untersuchungen Schunk's[2]) aus dem normaler Weise im Harn vorkommenden Indican abgespalten wird. Bekanntlich giebt Schunk an, dass beim längeren Erwärmen des Indicans mit verdünnten Säuren ausser dem Indigblau auch noch andere Farbstoffe, in geringer Menge Indigroth und Indigbraun, daneben entstehen.

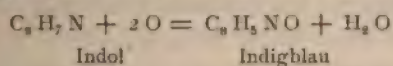
Auch aus dem Menschenharne, zumal in pathologischen Fällen, wurde ausser dem Indigblau noch ein in Alkohol mit violettrother Farbe löslicher Farbstoff erhalten, den man mit dem Namen Indigroth oder Indigcarmin bezeichnet. Mir selber wurde im Laufe dieses Sommers von der hiesigen medicinischen Klinik Harn von stark braunrother Farbe, herrührend von einer an Lähmung des Cervicalmarkes leidenden Frau, zur Untersuchung zugestellt, aus dem ich nach Zusatz von Salzsäure und Erwärmen einen rothen, amorphen Farbstoff isolirt habe, der in Alkohol und Eisessig mit schön violettrother Farbe sich löste und, trocken im Reagenzröhrchen

[1]) Ann. Chem. Pharm. **161**, 368.

[2]) Chem. Centralblatt 1856, S. 50; 1857, S. 957; 1858, S. 225.

erhitzt, wenn auch nur wenige, so doch deutlich violette Dämpfe entwickelte. Leider war es mir nicht möglich, den Harn längere Zeit zu untersuchen, da die Frau am dritten Tage ihrer Anwesenheit im Krankenhause verstarb. Man würde richtiger diesen Fall als eine rothe Indigurie bezeichnen können.

Nach einer kurzen Notiz von Jaffé[1]) in Königsberg verursacht das von A. Baeyer entdeckte Indol, Kaninchen subcutan injicirt, eine bedeutende Vermehrung des Indicans resp. Indigblaus im Harne. Da diese interessante Beobachtung Jaffé's, ohne jede analytischen Belege mitgetheilt, jedenfalls eine Wiederholung des Versuches wünschenswerth machte, so hat Herr Dr. Masson[2]) in meinem Laboratorium Versuche über das Verhalten des Indols, des Ox- und des Dioxindols im Thierkörper angestellt. Von 0.153 g Indol, einem Kaninchen in wässeriger Lösung von 40° C. unter die Haut gespritzt, erschienen 0.0405, also etwa ein Dritttheil, als Indigblau im Harne wieder. Später erfuhr ich aus der in polnischer Sprache erscheinenden Zeitschrift des Lemberger Apothekervereins, IV. Jahrgang, S. 16, dass auch die Herren H. Fudakowski und T. Hering in Warschau nach subcutaner Indolinjection ebenfalls bedeutende Vermehrung des im Harne ausgeschiedenen Indigblaus beobachteten. Die Menge des injicirten Indols ist indessen nicht angegeben worden. Nach alledem ist nicht zu bezweifeln, dass das Indol im Thierkörper zu Indigblau oxydirt werde, ein Vorgang, den man sich nach der Gleichung:

$$\underset{\text{Indol}}{C_8H_7N} + 2\,O = \underset{\text{Indigblau}}{C_8H_5NO} + H_2O$$

verlaufend denken kann, und der bis jetzt nur im Thierkörper realisirt worden. Allerdings wurde bis jetzt auch kein Versuch zur künstlichen Ueberführung des Indols in Indigblau angestellt, obgleich ein solcher wohl Aussicht auf Erfolg haben würde, zumal es schon Baeyer und Emmerling[3]) gelang, Isatin und Dioxindol in Indigblau überzuführen.

Versuche, die Herr Dr. Masson über das Verhalten des Ox- und Dioxindols im Organismus des Menschen, des Hundes und des Kaninchens angestellt, haben stets zu gleichen Resultaten geführt. Diese beiden Substanzen konnten nach dem innerlichen Gebrauche aus dem Harne nicht wieder dargestellt werden. Hingegen wurden durch Erwärmen des Harnes mit Salzsäure, durch Ausziehen mit Alkohol und Aether stets rothe Farbstoffe in geringer Quantität erhalten, die durchaus Aehnlichkeit hatten mit denjenigen, welche man bei der Oxydation der wässerigen Ox- und Dioxindollösungen an der Luft erhält. Zu interessanten Ergebnissen führten die Fütterungsversuche, die Herr Dr. Niggeler[4]) auf meine Veranlassung mit Isatin anstellte. Sowohl aus dem Hunde-, wie aus dem Menschenharne wurde nach Genuss von Isatin ein Farbstoff erhalten, der durchaus alle Eigenschaften mit demjenigen Farbstoff übereinstimmend zeigte, den ich aus dem Harne der oben genannten, an

[1]) Medicin. Centralblatt, Jahrgang 1870, S. 514.

[2]) Archives de Physiologie etc. Brown-Séquard, Charcot, Vulpian, Novembre 1874.

[3]) Ber. **3**, 514.

[4]) Archiv für experimentelle Pathologie. Herausgegeben von Klebs, Naunyn und Schmiedeberg (1874), **3**, 67.

Cervicallähmung leidenden Frau isolirt habe, und auch, soweit es sich beurtheilen lässt, mit dem von Heller aus dem Harne erhaltenen und als Indigroth (Urrhodin) beschriebenen Farbstoffe.

Zu dessen Darstellung wurde der Menschenharn von 24 Stunden nach Genuss von 2 g Isatin gesammelt, auf dem Wasserbade bis zu einem Dritttheil eingedampft und mit starker Salzsäure versetzt. Der Harn färbt sich erst intensiv roth, wird immer dunkler, bis fast schwarz, und endlich nach mehreren Stunden scheidet sich ein Farbstoff ab, der unter dem Mikroskop als dunkle rothe Körner erscheint. Der abgeschiedene Farbstoff wurde mit heissem Alkohol ausgezogen, in welchen der grössere Theil mit schön carminrother Farbe überging, während ein Dritttheil als Rückstand ungelöst zurückblieb. Der nach dem Verdunsten des Alkohols erhaltene Farbstoff bildet getrocknet ein schwarzrothes, metallisch glänzendes Pulver. Im Reagenzglase erhitzt, sublimirt er in rothen Dämpfen, jedoch weit weniger, als eine entsprechende Indigomenge. Er ist nur spurenweise in heissem Wasser löslich, leicht dagegen mit carminrother Farbe in Eisessig und Alkohol. In Ammoniak und Natronlauge löst er sich wenig mit braunrother Farbe; aus beiden Lösungen wird er in braunen, amorphen Flocken gefällt. In diesen Lösungen längere Zeit gekocht, wird er erst schmutzig braun und endlich ganz entfärbt; ebenso entfärben Chlorkalk und Salpetersäure seine alkoholische Lösung. Spectroskopisch untersucht, zeigte die alkoholische oder essigsaure Lösung dieses Farbstoffes keinen Absorptionsstreifen. Krystallinisch konnte er nicht erhalten werden.

Der in Alkohol unlösliche Rückstand löste sich leicht mit braunrother Farbe in Ammoniak und wird aus dieser Lösung durch Salzsäure in amorphen Flocken gefällt. Trocken stellt er ein schwarzbraunes, metallisch glänzendes Pulver dar und lässt sich nicht sublimiren. In kaltem Alkohol und Eisessig ist er nicht, in heissem nur spurenweise löslich; sehr leicht löst er sich mit braunrother Farbe in Ammoniak und Alkalien. Bei fortgesetztem Kochen mit Alkalien wird die Farbe hellgelb. Mit verdünnter Salpetersäure erwärmt, wird der Farbstoff zerstört. Auf eine ebenso befriedigende Weise, wie die Entstehung des Urobilins, scheint sich nun auch die Frage nach dem Ursprunge des Indicans resp. Indigblaus im Harne zu lösen. W. Kühne [1], der die früheren Angaben Corvisart's, dass das Pankreas Eiweiss verdaut, durch sorgfältige Untersuchungen ausser allem Zweifel stellte, machte zuerst darauf aufmerksam, dass Fibrin, mit Pankreas bei 40 bis 45° C. digerirt, einen unerträglichen Geruch nach Naphtylamin (oder Indol) entwickelte.

So weit die Mittheilung Kühne's, der diesen Gegenstand nicht weiter verfolgte. Später hat Radziejewski [2]) in seiner Arbeit „Ueber die physiologische Wirkung der Abführmittel" in den ätherischen Extracten der Fäces ausser Cholesterin und Fett einen nach Indol riechenden Rückstand erhalten, der einen mit Salzsäure angefeuchteten Fichtenspan roth färbte, und dessen wässerige oder ätherische Lösung, mit Salzsäure angesäuert, nach Zusatz einer Spur salpetrigsauren Kaliums rosarothe Färbung annahm — beides dem Indol eigenthümliche Reactionen. Ist

---

[1]) Virchow's Archiv. **39**, 165.

[2]) Reichert und Du-Bois-Reymond's Archiv, Jahrg. 1870, S. 37

nun das Indol wirklich ein Product der Eiweissverdauung durch das Pankreas, wie es auch die Ansicht von Jaffé ist, so ist damit auch das Vorkommen des Indicans im Harne aufgeklärt. Das im Darme entstehende Indol wird resorbirt, im Blute zu Indigblau oxydirt und mit Zucker gepaart als Indican ausgeschieden. Ich habe in der Absicht, aus den Pankreasverdauungsproducten Indol in Substanz darzustellen und so die oben ausgesprochene, sehr wahrscheinliche Vermuthung zur Gewissheit zu erheben, eine Reihe von Verdauungsversuchen mit Fibrin, Eiereiweiss und Leim angestellt. Die nach der beendigten Verdauung erhaltenen Flüssigkeiten wurden, um das etwa gebildete Indol von den anderen Verdauungsproducten zu isoliren, aus einer tubulirten Retorte mit Wasserdämpfen zur Hälfte mit Wasser überdestillirt. Bei der grossen Flüchtigkeit des Indols war es zu erwarten, dass sich wenigstens der grössere Theil desselben in der Vorlage abscheiden würde. Es hat sich nun gezeigt, was man übrigens schon während der Verdauung hat beobachten können, dass verhältnissmässig die grösste Menge der flüchtigen, entschieden nach Indol, und nicht nach Naphtylamin, riechenden Substanz bei der Verdauung des Fibrins gebildet werde; allein die Menge dieser Substanz ist stets so gering, dass auch bei der Fibrinverdauung aus dem wasserklaren Destillate sich nie das Indol in fester Form abgeschieden hat. Auch durch Schütteln des Destillates mit Aether und nachheriges Verdunsten des letzteren konnte ich nicht das Indol krystallinisch erhalten. Es liess sich aber auf andere Weise das Vorhandensein dieser Substanz nachweisen. Dieser Nachweis beruht auf der ausgezeichneten Leichtigkeit, mit der das Indol rothgefärbte, in Wasser unlösliche Körper giebt. Versetzt man die wässerige Indollösung mit etwas stark verdünnter rauchender Salpetersäure, so scheidet sich ein rother, voluminöser Niederschlag ab, der nach Baeyer's[1] Vermuthung salpetrigsaures Indol ist. Genau das gleiche Verhalten zeigte das aus der Fibrinverdauung erhaltene Destillat, welches, mit ein paar Tropfen verdünnter rauchender Salpetersäure versetzt, zunächst eine intensiv rothe Farbe annahm, und aus welchem sich nach wenigen Minuten ein rother, voluminöser Niederschlag ausschied. Aus dem Destillate, herrührend von 250 g Fibrin und 64 g frischem Hundepankreas, erhielt ich 0.0072 g dieser rothen, über Schwefelsäure getrockneten Substanz. Sie löst sich leicht mit schön blutrother Farbe in Alkohol; besonders charakteristisch aber ist ihr Verhalten gegen concentrirte Schwefelsäure, worin sich eine Spur derselben mit prächtig purpurrother Farbe auflöst. Allerdings giebt auch eine wässerige Naphtylaminlösung mit Salpetersäure einen purpurrothen Niederschlag (Piria's Naphtameïn), welcher aber von dem aus dem Verdauungsdestillate erhaltenen Farbstoffe verschieden ist, wie ich mich durch Vergleichen der beiden Farbstoffe überzeugte. Gerade die Reaction mit Schwefelsäure, worin sich das Naphtameïn mit blauer Farbe auflöst, ist bei den beiden Farbstoffen sehr different.

Dass das Indigblau selbst nicht im Darme gebildet werde, davon habe ich mich durch einen besonderen Versuch überzeugt. Es wurden einem Hunde mit seiner gewöhnlichen Nahrung, aus Fleisch und Milch bestehend, 2 g reines, krystallisirtes Indigblau verabreicht. Der darauf gelassene Harn mit dem gleichen Volumen roher Salzsäure versetzt, zeigte nach Zusatz einiger Tropfen Chlorkalklösung (eine von

[1] Ann. Chem. Pharm., Suppl. **7**, 59.

Jaffé angegebene, auf Indican sehr empfindliche Probe) eine schwach violette Färbung; es hat sich jedoch keine wägbare Menge von Indigblau abgeschieden. Hingegen zeigte sich der erst am fünften Tage nach der Indigoverabreichung gelassene Koth bei der mikroskopischen Betrachtung durchsetzt mit krystallinischem Indigblau. Die Excremente wurden nun möglichst fein zertheilt, mit Alkohol ausgezogen, der Rückstand mit Wasser ausgekocht, getrocknet, gepulvert und durch Sieben von verschluckten Haaren und unverdauten Speiseresten befreit. So wurden im Ganzen 11.248 g einer Substanz erhalten, welche ziemlich das Aussehen von käuflichem Indigo hatte. Den Indigogehalt dieser Substanz konnte man darin ganz gut nach dem Vorschlage von F. Mohr[1]) durch Titriren mit einer Kaliumpermanganatlösung von bekanntem Gehalte bestimmen. Es fanden sich 17.7 Proc. oder 1.99 g Indigblau statt der verabreichten 2 g. Dieser Versuch ist hinreichend, um behaupten zu können, dass wenigstens bei dieser Ernährung reines Indigblau unverändert den Darmcanal passirt. Nach alledem ist es mir auch sehr wahrscheinlich, dass die vermehrte Indigblauausscheidung, wie man sie in pathologischen Fällen, so namentlich bei Leber- und Nierenleiden, bei Cholera, Typhus u. s. w. beobachtet hat, auf einer vermehrten Indolbildung, d. h. in diesem Sinne veränderten Pankreasverdauung im Darme beruhe.

Das Auftreten aber des Indigroths im Harne wird am einfachsten dadurch erklärt, dass ein Theil des im Darme entstandenen Indols zunächst zu Isatin umgewandelt wird, welches dann, wie dies die Versuche des Herrn Niggeler zeigen, in den rothen Harnfarbstoff übergeführt wird.

Zu interessanten Resultaten haben mich die bis jetzt noch gar nicht bekannten Pankreasversuche mit Leim geführt. Die hier auftretenden Producte sind qualitativ und quantitativ von denen des Albumins verschieden. Leim liefert die geringste Indolmenge. In dem Destillate einer Verdauungsflüssigkeit von 250 g reinster Gelatine war Indol durch den Geruch nicht mehr deutlich wahrnehmbar. Mit Salpetersäure färbte sich das Destillat schön violett; es erfolgte jedoch keine Abscheidung der rothen Substanz. Ferner wird bei der Leimverdauung stets Ammoniak gebildet; auch erhielt ich das Tyrosin nur in minimalen Quantitäten. Dagegen wurde aus der Leimverdauungsflüssigkeit von gewöhnlichem Knochenleim und Hausenblase neben Leucin auch Glycocoll erhalten.

Die Darstellung von Glycocoll, das zuerst von mir als Product der Pankreasverdauung beobachtet worden, geschieht am zweckmässigsten durch Digestion von 250 g gewöhnlichem Tischlerleim mit dem 10- bis 15 fachen Gewichte Wasser und frischem Ochsenpankreas etwa 24 Stunden bei 45° C. Nach Verlauf dieser Zeit wird die alkalisch reagirende Flüssigkeit von eigenthümlichem, intensivem Geruch, der sich noch am besten mit dem einer starken Knochensuppe vergleichen lässt, zum Sieden erhitzt, von dem coagulirten Eiweiss abfiltrirt und in der Kälte mit basischem Bleiacetat genau gefällt, das Filtrat nöthigenfalls durch $H_2S$ von Blei befreit und auf dem Wasserbade bis zum stärksten Syrup concentrirt. Hierauf wird die zähe, klebrige Masse so lange mit absolutem Alkohol gemischt, bis sie damit eine homogene Flüssigkeit bildet und keine bleibende Trübung erfolgt. Beim Stehen

[1]) Titrirmethode, S. 168.

in der Kälte, manchmal schon beim Anrühren mit Alkohol, krystallisirt daraus das Glycocoll mit Leucin vermengt. Auf einem Bunsen'schen Aspirator filtrirt, können sie von der syrupartigen Lauge getrennt werden und werden schon nach zweimaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser in reinem Zustande erhalten. Das so erhaltene Glycocoll wurde durch seine Krystallform, seine Löslichkeit in Wasser, Schwerlöslichkeit in Alkohol, seinen süssen Geschmack und die Darstellung des charakteristischen Kupfersalzes als solches erkannt.

Der völligen Sicherheit halber wurde die Elementaranalyse ausgeführt und ergab folgende Zahlen:

| Es wurde gefunden: | Die Formel $C_2H_5NO_2$ verlangt: |
|---|---|
| C 32.20 Proc. | C 32.00 Proc. |
| H 6.79 „ | H 6.66 „ |
| N 18.91 „ | N 18.66 „ |

Ferner enthielt das über Schwefelsäure getrocknete Kupfersalz 27.65 Proc. Kupfer. Die Formel $C_2H_4CuNO_2 + \frac{1}{2}H_2O$ verlangt 27.6 Proc. Cu.

Die Ausbeute an Glycocoll bei der Pankreasverdauung kann ich nicht genau angeben, da es nicht gut möglich ist, das Glycocoll vollständig aus den syrupartigen Laugen abzuscheiden. Ich erhielt aus 250 g Hausenblase und 46 g Hundepankreas 3 g reines Glycocoll; aus den Laugen wurden noch 0.8 g isolirt, so dass im Ganzen etwa 4 g erhalten wurden. Die Hauptmasse aber der Verdauungsproducte bildet der zähe, schwach gelblich gefärbte Rückstand, den ich mit dem Namen Leimpepton bezeichnen werde.

Diese Substanz gelatinirt nicht mehr und wird durch Sublimat nicht gefärbt. In kaltem Wasser löst sie sich in jedem Verhältnisse; auch in verdünntem Weingeist ist sie löslich; von absolutem Alkohol wird sie in weissen amorphen Flocken gefällt. Ich bin gemeinschaftlich mit Herrn Hans Steiner mit den Analysen dieser Substanz, sowie überhaupt mit der genauen Untersuchung der Leimverdauung unter dem Einflusse des Pankreas beschäftigt.

Die Bildung des Glycocolls schon im Darmcanal ist von besonderem physiologischen Interesse. Glycocoll, mit Benzoësäure zu Hippursäure gepaart, ist im Organismus der Pflanzenfresser die wichtigste Substanz der regressiven Stoffmetamorphose. Ich zweifle nicht daran, dass wenigstens ein Theil der Hippursäure im Harne der Pflanzenfresser von diesem im Darme gebildeten Glycocoll herrührt, welches letztere aufgesogen und schon in der Leber — dem wahrscheinlichsten Sitz der synthetischen und auf Wasserentziehung beruhenden Processe — mit der Benzoësäure zu Hippursäure sich paart und als solche ausgeschieden wird.

Im Organismus des Menschen und des Fleischfressers, wo die Menge der täglich gebildeten Benzoësäure eine viel geringere ist, wird das Glycocoll zu Harnstoff umgewandelt, wie dies auch direct durch die Versuche von Schultzen und mir [1]) nachgewiesen worden. Das Glycocoll aber der geringen Quantitäten von Hippursäure, die normaler Weise vom Menschen ausgeschieden werden, wird am wahrscheinlichsten, ebenso wie beim Pflanzenfresser, schon im Darme gebildet.

Bern, im November 1874.

[1]) Ber. 2, 566. — Dieser Band S. 1.

# Des matières colorantes
## du groupe indigo
### considérées au point de vue physiologique.

Par

**M. F. Masson.**

In.-Diss. Bern. — Arch. de physiologie normale et pathologique T. 1 (2me Série), p. 958.
A M. Le Prof. Nencki. Hommage de reconnaissance.
L'Auteur.

C'est un fait reconnu depuis longtemps que l'urine de l'homme et d'autres mammifères présente, si on la chauffe doucement en ajoutant un peu d'acide chlorhydrique, une coloration rouge, violette ou même bleue. Les nombreuses expériences des différents physiologistes ont démontré en partie la nature de cette substance colorante, qui devient libre par l'action de l'acide.

On ne peut douter que l'indicane, obtenu d'abord par Schunk[1]), comme produit de l'Isatis tinctoria et des plantes qui contiennent de l'indigo, ne se trouve dans le sang et dans l'urine à l'état normal. De plus, il est reconnu que l'indicane se dédouble, par l'action de ferments ou par l'ébullition aidée d'acides dilués, en indigo et en une matière sucrée: l'indiglucine. Cependant, par l'action prolongée de l'acide sulfurique dilué, cette substance donne, outre ces deux produits principaux, de la leucine, de l'acide formique, de l'acide carbonique et d'autres substances colorantes comme le brun d'indigo, le rouge d'indigo, l'indigofulvine, l'indigofuscine; matières colorantes sur la nature et la composition desquelles on n'est pas encore très-bien renseigné. La cause de la coloration violette ou bleue de l'acide, si l'on chauffe cette dernière avec l'acide chlorhydrique, peut donc être rapportée à l'indicane.

On a ainsi obtenu de l'urine normale de l'homme du bleu d'indigo parfaitement pur, que l'on a reconnu par les réactions caractéristiques, être parfaitement identique avec le bleu d'indigo qu'on retire du règne végétal. Dans certains cas pathologiques, la quantité en était plus considérable qu'à l'état normal.

La manière d'être du bleu d'indigo, vis-à-vis des agents oxydants, prouve

[1]) Kolbe, Organ. Chemie, III, vol. III, 164.

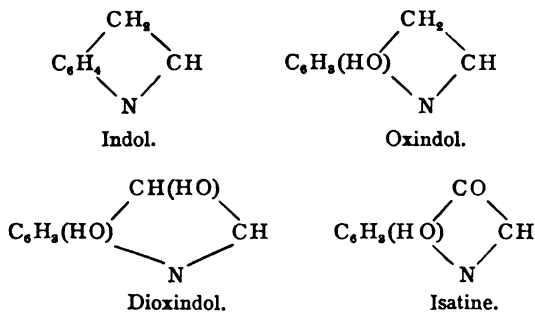
suffisamment qu'il appartient au groupe des substances aromatiques. Ainsi, si on le traite avec de l'acide nitrique, il donne de l'isatine, et, si l'action se prolonge, de l'acide nitrosalicilique, de l'aniline et de l'acide picrique.

Baeyer et C.-A. Knopp[1]), obtinrent par réduction de l'isatine deux substances: l'acide hydrindrinique (dioxindol), dont la constitution empirique est représentée par $C_8H_7NO_2$ et l'oxindol $C_8H_7NO$. Plus tard Baeyer découvrit l'indol, qu'on produit en faisant passer de l'oxindol sur de la poussière de zinc surchauffée.

La formule de l'indol est $C_8H_7N$. C'est un corps cristallisable, volatil, fondant à 52°, très-peu soluble dans l'eau froide et beaucoup plus dans l'eau chaude. Par le refroidissement il cristallise en grosses tables incolores, tandis qu'une petite partie reste en suspension dans l'eau. Son odeur est tout à fait particulière et rappelle celle de la naphtilamine. C'est une faible base.

Les formules suivantes de Baeyer et Knopp donneront une idée des rapports qui existent entre l'indol et les substances provenant de l'indigo:

```
       CH2                    CH2
      /   \                  /   \
  C6H4     CH      C6H3(HO)       CH
      \   /                  \   /
        N                      N
     Indol.                 Oxindol.

          CH(HO)                  CO
         /      \                /   \
 C6H3(HO)        CH      C6H3(HO)     CH
         \      /                \   /
            N                      N
       Dioxindol.              Isatine.
```

D'un autre côté, d'après une notice du professeur Jaffé[2]), des injections sous-cutanées d'indol pratiquées sur des animaux produisent une augmentation considérable de l'indicane contenu dans l'urine; et d'après les observations de Kühne[3]), l'indol appartient aux produits de la digestion pancréatique. Aussi Jaffé a proposé d'admettre comme source de l'indicane de l'urine, du moins en partie, l'indol provenant de la digestion pancréatique. La communication de Jaffé n'est accompagnée d'aucun document analytique et, comme pour savoir si décidément l'indicane de l'urine provient de l'indol de la digestion pancréatique une appréciation quantitative était désirable, j'ai entrepris et répété sur l'instigation de M. le professeur Nencki les expériences de Jaffé.

De plus, poussé par les rapports intimes qui existent entre le dioxindol, l'oxindol et l'indol, j'ai entrepris des expériences avec ces deux premiers corps. Les substances que j'ai employées étaient chimiquement pures. Elles furent préparées par M. le professeur Nencki, auquel je dois témoigner toute ma reconnaissance pour son bienveillant concours.

---

[1]) Annal. Chem. Pharm., vol. CXL, p. 1 (Liebig).
[2]) Centralblatt f. med. Wissenschaft, 1872, p. 2.
[3]) Virchow's Archiv, C. 139, p. 136.

J'ai expérimenté d'abord sur le lapin, puis sur le chien et l'homme.

1re Expérience. — Je fais une injection sous-cutanée chez un lapin de 0.153 g d'indol dans 20 centimètres cubes d'eau à 30°. L'indol est en partie dissous et en partie suspendu en gouttelettes. L'injection eut lieu à 5 heures du soir, quatre heures après, j'obtins par cathétérisation 76 centimètres cubes d'une urine jaune pâle jumenteuse et n'ayant pas du tout l'odeur de l'indol. Aucun effet toxique ne fut remarqué.

Traitée d'après le procédé de Jaffé[1]), c'est-à-dire en y ajoutant une quantité d'acide chlorhydrique égale à la sienne, et une goutte d'une solution saturée d'hypochlorite de chaux, l'urine présenta aussitôt une coloration bleue très-marquée. Une goutte de cette solution placée sous le microscope présentait de magnifiques cristaux d'indigo.

Après cet essai toute l'urine du lapin fut traitée d'après la même méthode. Seize heures après l'injection par une simple pression sur la vessie, j'ai obtenu 50 centimètres cubes d'urine, ayant les mêmes propriétés que la précédente. Cependant quoiqu'on procédât tout à fait de la même manière, la coloration ne fut pas si intense. Après trente-six heures, la même réaction démontra qu'il n'y avait plus d'indicane. Les 76 centimètres cubes d'urine, obtenus 4 heures après l'injection et traités d'après la méthode de Jaffé, furent filtrés sur un filtre dont le poids fut pris, après qu'il eut été soigneusement lavé et séché à 110° C. Dans les 76 centimètres cubes d'urine, l'indigo trouvé fut de 0.0203 g, ce qui fait environ 0.039 %. Les 50 autres centimètres cubes d'urine furent traités d'après la même méthode, et j'obtins 0.0162 g d'indigo, c'est-à-dire 0.0324 %. La somme de tout l'indigo sécrété après l'injection d'indol étant de 0.0455, cela donne un peu plus du tiers de l'indol injecté.

2e Expérience. — J'injecte sous la peau d'un autre lapin 0.25 g d'oxindol dissous dans 20 centimètres cubes d'eau à 40°. On ne remarque pas d'effets toxiques. Quatre heures après l'injection, j'obtiens, au moyen de la pression sur l'abdomen, une urine jaune pâle sans odeur particulière. Traitée comme la précédente par le procédé de Jaffé, elle donne une coloration rouge bleuâtre très-marquée; il n'y a pas trace d'indigo.

3e Expérience. — Sous la peau d'un troisième lapin, j'injecte 0.513 g de dioxindol, dissous dans 20 centimètres cubes d'eau à la température du corps. L'urine, obtenue dans les 28 heures après l'injection et traitée par l'acide chlorhydrique et l'hypochlorite de chaux, présenta la même coloration rouge bleuâtre que l'urine du lapin, auquel on fit une injection d'oxindol.

Cette coloration rouge brunâtre de l'urine des animaux ayant pris du monoxindol et du dioxindol se présentait d'une manière beaucoup plus marquée dès que l'urine était chauffée avec addition d'acide chlorhydrique. Après un long repos, cette urine, toujours traitée par l'acide chlorhydrique, laissait déposer un précipité amorphe, mais en très-petite quantité.

Ces deux dernières expériences démontrent que les injections sous-cutanées de monoxindol et de dioxindol n'augmentent pas la quantité d'indicane dans l'urine;

[1]) Pflüger's Archiv für Physiologie, 1870, p. 448.

cependant la coloration rouge brunâtre de l'urine que l'on obtient à l'aide de l'acide chlorhydrique et de la chaleur m'engagea à faire des recherches plus complètes sur l'homme et le chien.

4e Expérience. — Je donne dans la nourriture d'un chien 1 g de dioxindol. Le chien dont je me suis servi se trouvait dans un équilibre parfait, c'est-à-dire que l'urine qu'il sécrétait chaque jour, correspondait à la quantité d'azote qu'il recevait dans le même temps dans sa nourriture. Toutes les 24 heures on lui donnait 250 g de viande et 250 centimètres cubes de lait.

L'urine du soir et du matin est recueillie. Traitée avec de l'acide chlorhydrique, elle présente une coloration rouge avec teinte brunâtre. Je la précipite par le plomb basique et je filtre sur l'aspirateur Bunsen. La liqueur qui a traversé le filtre est soumise à l'action de l'hydrogène sulfuré. Après que tout le plomb fut précipité, le liquide est filtré à chaud, puis condensé par une évaporation lente. Ensuite je traite le résidu par l'éther, qui prend aussitôt une belle coloration rougeâtre, mais nullement semblable à celle qui se produit, si l'on traite l'urine normale avec le même liquide. La solution éthérée est distillée et réduite au volume de 3 à 4 centimètres cubes; puis je l'abandonne dans une petite capsule sous un appareil dessiccateur.

Vingt-quatre heures après, il s'est déposé une matière brunâtre, amorphe, insoluble dans l'eau. La solution alcoolique, traitée par l'ammoniaque, donne une coloration rouge avec teinte violette, mais sans précipité. Au spectroscope et diluée à divers degrés, cette solution ne présente rien de particulier.

La partie non soluble dans l'éther est reprise et traitée par le plomb basique. Je filtre et soumets la liqueur à l'action de l'hydrogène sulfuré; puis je refiltre à chaud et condense par évaporation. Ce qui est resté sur le filtre est mis en suspension dans l'eau distillée, soumis à l'action de l'hydrogène sulfuré, filtré à chaud et évaporé lentement.

Ces deux derniers résidus ne donnent que des résultats négatifs; je n'obtiens pas de matière colorante.

Le précipité qui est resté sur le filtre, lors de la première opération, est repris, mis en suspension dans de l'eau et soumis à l'action de l'hydrogène sulfuré. Après que le plomb fut précipité, le liquide est filtré à chaud, puis condensé par une évaporation lente. Je traite le résidu par de l'éther et la solution éthérée est, de même que dans la première opération, soumise à la distillation. Réduite au volume de 3 à 4 centimètres cubes, je l'abandonne sous un dessiccateur. Vingt-quatre heures après, il s'est déposé une matière brunâtre, que je reconnais être en tout semblable à celle obtenue dans la première opération.

Cette expérience démontre que le dioxindol, pris avec les aliments donne lieu à la présence de matières colorantes dans l'urine, matières qui sont en partie précipitables par le plomb basique. Elles sont insolubles dans l'eau, solubles dans l'alcool et l'éther. La quantité que j'en ai obtenue fut si minime, qu'il me fut impossible de les déterminer mieux que je ne l'aie fait.

5e Expérience. — Injection hypodermatique de 1 g de dioxindol chez un lapin. L'urine traitée par l'acide chlorhydrique devient rouge brunâtre. Je la condense par évaporation lente et je la traite immédiatement avec de l'éther.

La partie solide de l'éther est distillée et réduite au volume de 2 à 3 centimètres cubes. Sa coloration est alors d'un beau rouge foncé. En ajoutant de l'eau, il se précipite aussitôt une résine. La partie non soluble est évaporée, après que j'y eus ajouté quelques gouttes d'acide chlorhydrique. Réduite au volume de 5 centimètres cubes, elle laisse déposer une matière amorphe; je laisse refroidir et reposer. Au microscope, cette matière est amorphe et présente une coloration brunâtre. Elle est soluble dans l'alcool, et sa solution est d'un rouge brun.

6e Expérience. — Je donne au même chien 1 g de monoxindol. L'urine traitée par l'acide chlorhydrique donne une coloration rouge brunâtre. Je la condense par une évaporation lente. Concentrée et traitée de nouveau par l'acide chlorhydrique, elle présente la même coloration, mais plus intense. Il se dépose à sa surface des cristaux d'urée; j'arrête la concentration et laisse refroidir. Je redissous dans de l'eau, et après avoir ajouté quelques grammes d'acide chlorhydrique, je chauffe et laisse refroidir à nouveau. Peu à peu il se dépose une matière d'un brun grisâtre. Je filtre. La substance qui est restée sur le filtre est en tout semblable à celle qu'a présentée l'urine du chien ayant pris du dioxindol.

7e Expérience. — Je prends 2 g de dioxindol en deux doses, et je recueille mon urine des 24 heures. Traitée par l'acide chlorhydrique, elle présente cette même coloration rouge qu'a donnée, traitée par le même acide, l'urine du chien ayant pris du dioxindol.

Je la précipite par le plomb basique et je filtre. Le liquide qui a traversé le filtre est soumis à l'action de l'hydrogène sulfuré. Tout le plomb étant précipité, je filtre à chaud et je condense par évaporation lente. Dès que le liquide fut réduit à environ 80 g, il se fit un dépôt de cristaux, que je reconnus pour être du chlorure de sodium. Je filtre et je mélange la liqueur avec de l'alcool. Il se dépose aussitôt un précipité brunâtre formé par des sels inorganiques. Je filtre à nouveau, et la liqueur obtenue est d'une belle couleur rouge brunâtre. Je la condense par évaporation. Réduite à environ 30 g et après y avoir ajouté quelques gouttes d'acide, je la mélange avec de l'éther; puis je distille la solution éthérée jusqu'à sa réduction au volume de 3 à 4 centimètres cubes, que je laisse ensuite reposer dans une petite capsule. Celle-ci présente, environ 36 heures après, en très-minime quantité, un résidu brunâtre, amorphe, insoluble dans l'eau. Sa solution alcoolique est rouge brunâtre; si l'on y ajoute quelques gouttes d'ammoniaque, elle devient plus claire, mais ne présente pas cette belle coloration que donne le dioxindol.

La partie non soluble dans l'éther est reprise et traitée successivement par le plomb basique et l'hydrogène sulfuré. Après filtration, la liqueur est condensée par évaporation. Elle ne donne pas de résultats; elle contient bien de longues aiguilles mais ce sont des cristaux de chlorure de plomb.

Le précipité qui est resté sur le filtre lors de la première opération, est mis en suspension dans de l'eau, puis soumis à l'action de l'hydrogène sulfuré. Tout le plomb étant précipité, je filtre le liquide à chaud et le condense par évaporation. Réduit à environ 15 centimètres cubes, le liquide, d'un rouge brun très-foncé, est traité par de l'éther et la solution éthérée soumise à la distillation jusqu'à réduction au volume de 4 à 5 centimètres cubes; puis je laisse reposer dans une capsule.

Il se forme également un dépôt qui est en tout semblable au résidu provenant de la première opération.

La partie non soluble de l'éther est également reprise et traitée de même que plus haut. Elle ne donne pas de résultats.

L'expérience faite sur l'homme concorde donc quant au résultat, parfaitement avec celle faite sur le chien. Mes recherches démontrent ainsi que l'oxindol et le dioxindol ne sont pas transformés et sécrétés par l'économie sous forme de bleu d'indigo. Dans ces dernières expériences, l'urine ne fut pas examinée d'après le procédé de Jaffé, par la simple raison que dans l'urine du lapin ayant pris du dioxindol, je n'avais pas trouvé de bleu d'indigo.

Le monoxindol et le dioxindol se comportent dans l'économie de la même manière qu'une solution de dioxindol placée à l'air. D'après Baeyer et Knop, l'oxindol, après un contact prolongé avec l'air, s'oxyde et se transforme en dioxindol. La solution de dioxindol, au début claire et d'un jaune pâle, s'oxyde à son tour au simple contact de l'air. Elle devient d'abord rose, puis peu à peu rouge foncé. Par l'action de la chaleur toute sa masse devient rouge très-foncé et après évaporation, on trouve comme résidu de l'isatine et des produits de condensation.

Les résultats que j'ai obtenus avec l'indol concordent parfaitement avec ceux de Jaffé. La source de l'indicane de l'urine ne peut donc plus être regardée comme problématique.

Dans la digestion pancréatique de la fibrine, Kühne a trouvé:

61 % Peptones;

3,86 % Tyrosine;

9,1 % Leucine;

26 % de matières plus ou moins inconnues et sur lesquelles on n'a pas encore fait de recherches particulières. Parmi celles-ci se trouve l'indol, qui jusqu'à maintenant n'a pas encore été isolé, mais sur l'existence duquel on ne peut plus avoir de doute, grâce à son odeur parfaitement caractéristique.

La tyrosine appartenant au groupe des substances aromatiques, l'indol est le deuxième corps du groupe moléculaire de l'albumine, qui doit être également rattaché à la série benzol. La supposition que la tyrosine, dont la constitution chimique n'est pas encore parfaitement connue, pouvait par une transformation plus complète donner de l'indol, ne s'est pas confirmée. Une injection sous-cutanée de tyrosine faite sur un lapin dans le laboratoire de M. le professeur Nencki n'a pas donné de résultat, c'est-à-dire que l'urine examinée d'après le procédé de Jaffé ne contenait pas d'indicane.

MM. Schultzen et Nencki[1]) ont aussi fait quelques recherches sur le même sujet. Ils ont ajouté à la nourriture d'un chien une certaine quantité de tyrosine; mais quoique celle-ci eût subi l'action du suc pancréatique, l'urine ne présentait rien de particulier. Ainsi il est tout à fait invraisemblable que l'indol provienne d'une transformation plus avancée de la tyrosine.

Cependant, d'après M. le professeur Nencki, la putréfaction des corps

[1]) Zeitschrift f. Biologie **8**, 124 bis 146. — Dieser Band S. 1.

albuminoïdes donne aussi naissance à l'indol; et comme la digestion des corps albuminoïdes par le suc pancréatique, est en général semblable, soit en qualité, soit en quantité, aux produits de dédoublement amenés par la putré faction on n'est pas autorisé à considérer les deux phénomènes comme différents dans leurs points essentiels. De même la transformation des matières sucrées dans le tube intestinal ne peut pas être mieux comparée qu'à celle produite par la fermentation.

Ainsi donc tous les cas d'indigurie peuvent être expliqués par le simple fait d'une hyperproduction d'indol par le suc pancréatique. Ces cas ont été observés aussi bien dans l'état de constipation que dans celui de diarrhée.

Je ne sais si les matières colorantes que j'ai rencontrées dans l'urine des animaux ayant reçu de l'oxindol et du dioxindol, ont été observées dans des études normales ou pathologiques; dans le cas affirmatif, il serait alors possible qu'une partie de l'indol se transformât d'abord en dioxindol, puis plus tard en cette matière que j'ai obtenue. Ainsi une partie de l'indol que j'ai donné au lapin sous forme d'injection sous-cutanée, a été retrouvée dans l'urine sous forme d'indicane; mais les deux autres parties ont disparu. Que sont-elles devenues? C'est ce que je ne saurais dire.

M. le docteur Niggeler a expérimenté dans le même laboratoire que moi avec de l'isatine et il a découvert dans l'urine une matière colorante en tout semblable à celle que Heller a décrite sous le nom de rouge d'indigo.

Il se peut donc que l'indol se transforme dans l'économie d'abord en dérivés d'oxydation de celui-ci, produits, qui, par une oxydation plus avancée, donneraient naissance, à côté du bleu d'indigo, à d'autres matières colorantes, que l'on désigne sous les noms de rouge d'indigo et de brun d'indigo.

Berne, août 1874.

# Ueber Harnfarbstoffe aus der Indigogruppe

von

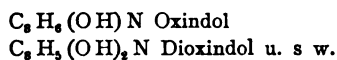
**R. Niggeler.**

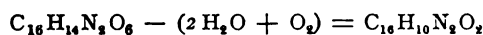
In.-Diss. Bern. — Arch. exp. P. Ph. 3, 67.
Seinem hochverehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. von Nencki in Bern hochachtungsvoll gewidmet vom Verfasser.

Die Harnfarbstoffe lassen sich, soweit die Forschungen bis heute reichen, in zwei Gruppen eintheilen. Die erste Gruppe, welche den färbenden Bestandtheil des Harnes bildet, stammt aus den Gallenfarbstoffen. Seitdem es nämlich Maly [1]) gelungen ist, durch Reduction aus Bilirubin einen Farbstoff (Hydrobilirubin) zu erhalten, der mit dem Harnfarbstoff von Scherer, dem Urochrom von Thudichum, dem Urobilin von Jaffé identisch ist, unterliegt es keinem Zweifel mehr, dass derselbe auch im thierischen Körper aus den Gallenfarbstoffen gebildet wird. Das Bilirubin wird im Darmcanal unter dem Einflusse des nascirenden Wasserstoffes in Hydrobilirubin verwandelt; dieses wird vom Darm aufgesogen und geht in den Harn über, dem es seine specifische gelbe Farbe ertheilt.

Die zweite Gruppe der Harnfarbstoffe gehört der Indigoreihe an. Sie ertheilt dem Harn keine Farbe; diese tritt erst hervor, nachdem der Harn mit Salzsäure erwärmt worden ist.

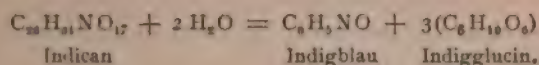
Trotz der verdienstvollen Arbeiten von Baeyer und Knop ist noch immer die chemische Constitution der Indigogruppe nicht festgestellt. Während sie als Muttersubstanz derselben das Indol $C_8 H_7 N$ annehmen, aus welchem sie durch Ersetzung des H durch OH die Derivate

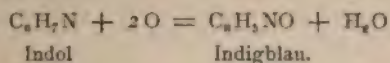
$C_8 H_6 (OH) N$ Oxindol
$C_8 H_5 (OH)_2 N$ Dioxindol u. s w.

entstehen lassen, stellten Emmerling und Engler [2]) eine andere Constitution auf, indem sie vom Indigoblau ausgehen, dessen Formel sie verdoppeln., Es ist ihnen nämlich gelungen, aus Mononitroacetophenon durch Wasserentziehung und Reduction Indigblau darzustellen:

$$C_{16} H_{14} N_2 O_6 - (2 H_2O + O_2) = C_{16} H_{10} N_2 O_2$$

zwei Moleküle Mononitroacetophenon. Indigblau.

[1]) Annalen d. Chem. u. Pharmac. 87, 77.
[2]) Ber. 3, 1870, S. 887.

So unklar bis vor Kurzem noch die Frage über die Entstehung des Indigblaus im thierischen Organismus war, eine so befriedigende Lösung hat sie in neuester Zeit erhalten. Es ist jetzt wohl allgemein angenommen, dass das Indigblau als Indican im Harne enthalten ist und durch Erwärmen mit Salzsäure in Indigblau und Indigglucin zersetzt wird:

$$\underset{\text{Indican}}{C_{26}H_{31}NO_{17}} + 2\,H_2O = \underset{\text{Indigblau}}{C_8H_5NO} + \underset{\text{Indigglucin.}}{3(C_6H_{10}O_6)}$$

Jaffé [1]) beobachtete nun, dass, wenn er einem Kaninchen Indollösung unter die Haut einspritzte, der Harn viel reicher an Indican, resp. Indigblau wurde. Dieser Versuch wurde im hiesigen Laboratorium von Herrn Masson unter Leitung des Herrn Professor Nencki wiederholt und bestätigt; von 0.153 Indol, einem Kaninchen unter die Haut gespritzt, erschienen 0.0405 als Indigblau im Harne wieder. Es kann keinem Zweifel unterliegen, dass dieses Indigblau aus dem Indol stammt. Das Indol hat sich im thierischen Körper zu Indigblau oxydirt, mit einem zuckerähnlichen Körper, dem Glucin, gepaart und als Indican im Harn denselben wieder verlassen:

$$\underset{\text{Indol}}{C_8H_7N} + 2\,O = \underset{\text{Indigblau.}}{C_8H_5NO} + H_2O$$

Nun hat aber Kühne unter den letzten Producten der Eiweissverdauung durch Pankreassaft einen Körper gefunden, welcher unzweifelhaft Indol ist. Was liegt näher, als anzunehmen, dieser Körper werde im Darme resorbirt und im Harne als Indican wieder abgeschieden? Freilich ist es noch nicht gelungen, künstlich aus Indol Indigblau und dann Indican darzustellen!

Beim Erwärmen von Harn mit Salzsäure werden neben dem Indigblau noch minimale Mengen anderer Farbstoffe abgeschieden, die als Urrhodin, Indigroth, Indigrubin u. s. w. von Scherer, Schunck, Heller und anderen Autoren beschrieben wurden. Allein ebenso gut, wie unter pathologischen Zuständen das Indigblau im Harn vermehrt wird, können auch diese Farbstoffe in verhältnissmässig grosser Menge auftreten; es kann eine rothe Indigurie entstehen. Eine solche auffallende Vermehrung wurde auf hiesiger Klinik in einem Falle von Lähmung des Cervicalmarkes beobachtet.

Dieser letztere Fall veranlasste mich, auf Anregen des Herrn Professor Nencki, zu Versuchen über das Verhalten einiger Glieder der Indigogruppe zum thierischen Organismus. Ich wählte zu diesen Fütterungsversuchen zunächst das Isatin, theils weil es am leichtesten darzustellen, theils weil es der Ausgangspunkt für die meisten Derivate des Indigblaus ist. Da dem Thierkörper zugeführte oder in ihm erst gebildete Säuren der aromatischen Reihe leicht sich mit dem Glycocoll paaren, so liess sich hoffen, dass das Isatin sich vielleicht in demselben zu einer Säure (Isatinsäure) oxydiren und, mit dem Glycocoll gepaart, denselben wieder verlassen würde. Es hätte dies wichtige Aufschlüsse über die Constitution der Indigogruppe gegeben.

---

[1]) Medic. Centralblatt 72.

Zu meinen Fütterungsversuchen benutzte ich einen Hund von 13 kg Körpergewicht, der täglich ein genau abgemessenes Quantum Nahrung, $^1/_2$ Pfund möglichst reines Muskelfleisch und $^1/_2$ Liter Milch erhielt. Er war daran gewöhnt worden, seinen Harn nur in ein ihm vorgehaltenes Gefäss zu lassen. Die tägliche Harnstoffausscheidung betrug im Mittel 20 g. Ich gab dem Hunde mit seiner Nahrung 1 g fein pulverisirtes, chemisch reines Isatin, das ich nach Laurent's Vorschrift [1]) aus käuflichem Indigo durch Oxydation mit Salpetersäure dargestellt hatte. Der Harn wurde von 24 Stunden gesammelt und mit Bleiessig gefällt; der Bleiniederschlag wurde in Wasser suspendirt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, zum Kochen erhitzt und heiss filtrirt. Aus dem Filtrat, welches intensiv roth wie eine Isatinlösung aussah, schieden sich schöne, fast farblose Krystalle ab; sie erscheinen unter dem Mikroskope als lange, oft büschelförmig an einander gereihte Prismen, Formen, welche denjenigen der Kynurensäure $C_{20}H_{14}N_2O_6$ völlig entsprechen. Sie geben mit der Murexidprobe nur eine gelbe Färbung, lösen sich leicht in Ammoniak und werden aus dieser Lösung durch Salzsäure wieder gefällt. Durch Kochen mit kohlensaurem Baryt wurde das Barytsalz in grossen, perlmutterglänzenden Blättchen erhalten, so dass kein Zweifel an der Identität dieser Substanz mit der Kynurensäure bestehen kann. Dieser Versuch wurde mehrmals mit gleichem Erfolg wiederholt und etwa 0.5 g der Substanz erhalten Es zeigte sich aber, dass aus dem Harne des Hundes, wenn er kein Isatin erhalten hatte bei gleicher sorgfältiger Behandlung weit geringere Mengen von Kynurensäure erhalten wurden. Es scheint demnach ein bis jetzt noch unbekannter Zusammenhang zwischen der Kynurensäure und dem Isatin oder seinen Derivaten zu bestehen.

Dampft man die von der Kynurensäure abfiltrirte Lauge ein, so scheiden sich nur wenige rothe Oeltropfen ab. Der durch Bleiessig gefällte Harn wurde eingedampft, mit Alkohol gefällt und filtrirt. Das Filtrat von dem Bleiessigniederschlage wurde auf dem Wasserbade bis zur völligen Entfernung des Alkohols erhitzt, der Rückstand mit Schwefelsäure angesäuert und mit Aether ausgezogen. Aus dem Aetherauszuge konnten keine Substanzen isolirt werden ausser wenigen Harnstoffkrystallen.

Da ich mit dieser Behandlungsweise des Harns nicht zum gewünschten Ziele kam, so dampfte ich bei den folgenden Versuchen mit Isatin den Hundeharn auf dem Wasserbade bis zu einem Drittel ein und setzte Salzsäure zu. Der Harn färbte sich erst intensiv roth, wurde immer dunkler bis fast schwarz und endlich nach mehreren Stunden schied sich ein Farbstoff ab, der unter dem Mikroskope als dunkelcarminrothe amorphe Körner erscheint. Ich wiederholte diesen Versuch mehrmals am Hunde und endlich, um die Substanz in grösserer Menge zu erhalten, zwei Mal mit gleichem Erfolg an mir selbst. Ich genoss ohne Schaden innerhalb weniger Stunden 2 g reines gepulvertes Isatin, sammelte den Harn von 24 Stunden und behandelte ihn genau auf die oben angegebene Weise. Es schieden sich in einem Versuche 0.25 g Farbstoff aus, also $^1/_8$ des eingenommenen Isatins. Dieser Farbstoff wurde mit heissem Alkohol ausgezogen, in welchen ein Theil mit prachtvoll carminrother Farbe überging, während ungefähr $^1/_3$ als Rückstand ungelöst blieb.

[1]) Gerhardt, Org. Chemie **4**, 586.

Nach Verdunsten des Alkohols blieb der Farbstoff zurück. Er bildet getrocknet ein schwarzrothes, metallisch glänzendes Pulver. Im Reagenzglase erhitzt, sublimirt er in rothen Dämpfen, jedoch weit weniger als eine entsprechende Indigomenge; bei weiterem Erhitzen setzen sich an den Wänden des Glases rothe Oeltropfen ab und zugleich ist der Geruch nach verbranntem Horn deutlich wahrnehmbar, was auf die Anwesenheit von Stickstoff schliessen lässt. Auf dem Platinblech verbrannte er sehr schwer und hinterliess etwas Asche. Er ist nur spurenweise in heissem Wasser löslich, sehr leicht dagegen mit carminrother Farbe in heissem und kaltem Alkohol und Eisessig. In Ammoniak löst er sich ziemlich schwer mit braunrother Farbe, leichter in Natronlauge; aus beiden Lösungen wird er durch Salzsäure in braunen amorphen Flocken gefällt. Mit Ammoniak und Natronlauge längere Zeit gekocht, wird er erst schmutzig braun und endlich ganz entfärbt; ebenso entfärben Chlorkalk und Salpetersäure seine alkoholische Lösung. Trotz aller Sorgfalt wollte es mir nicht gelingen, den Farbstoff aus irgend einem seiner Lösungsmittel krystallinisch zu erhalten.

Der Rückstand aus dem alkoholischen Auszuge löste sich sehr leicht mit braunrother Farbe in Ammoniak; aus dieser Lösung wurde er durch Salzsäure in armorphen Flocken gefällt, filtrirt, mit Wasser ausgewaschen und getrocknet. Er stellt ein schwarzbraunes, metallisch glänzendes Pulver dar und lässt sich nicht sublimiren. Auf dem Platinbleche verbrennt er sehr schwer und hinterlässt keine Asche. In kaltem Alkohol und Eisessig ist er nicht, in heissem nur spurenweise löslich; sehr leicht löst er sich dagegen mit braunrother Farbe in Ammoniak und Alkalien. Bei fortgesetztem Kochen mit Alkalien wird er hellgelb; mit Salpetersäure gekocht, wird er zerstört.

Bei diesen Versuchen beobachtete ich regelmässig, dass der Harn während der Farbstoffausscheidung in hohem Maasse Kupferoxyd in alkalischer Lösung zu Oxydul reducirt, während mein normaler Harn diese Erscheinung durchaus nicht zeigt. Die nämliche Thatsache constatirte ich beim Hundeharn. Es scheint demnach der Farbstoff, der im Harn nach Isatingenuss auftritt, an einen vielleicht zuckerartigen Körper gebunden zu sein, welcher Kupferoxyd reducirt, um mit demselben eine dem Indican analoge Verbindung zu bilden. Diesen reducirenden Körper nach der Farbstoffausscheidung aus dem stark salzsauren Harne zu isoliren, ist mir nicht gelungen.

Das gleiche Resultat, wie nach Isatinfütterung, erhielt ich, wenn ich einem Kaninchen eine gesättigte wässerige Isatinlösung von Körpertemperatur injicirte. Nach Fütterungsversuchen, welche Herr Masson im hiesigen Laboratorium mit Dioxindol anstellte, erschienen im Harn ebenfalls ähnliche, wenn nicht identische Farbstoffe wieder. Es ist dies nicht überraschend, wenn man bedenkt, wie leicht Dioxindol in Isatin übergeht.

Es ist höchst wahrscheinlich, dass von diesen beiden beschriebenen Farbstoffen der erste mit dem Indigroth (Urrhodin von Heller[1]) identisch ist, während der

[1]) Neubauer u. Vogel, Analyse des Harns, S. 40.

zweite, den ich Indigbraun nennen will, vielleicht dem von Scherer dargestellten Urohämatin entspricht.

Ich brauche wohl kaum zu erwähnen, dass ich auch meinen normalen Harn auf gleiche Weise untersuchte; der Harn färbte sich wohl dunkler, schied jedoch nie wägbare Mengen von Farbstoffen ab. Es geht daher aus diesen Versuchen unzweifelhaft hervor, dass die verhältnissmässig massenhafte Ausscheidung dieser Farbstoffe nach Isatingenuss von diesem Isatin selbst herstammt.

Da das Isatin ein Oxydationsproduct des Indigblaus ist und im thierischen Körper oxydirende Kräfte ja in reichem Maasse vorhanden sind, so war die Möglichkeit gegeben, dass im Organismus entstandenes oder demselben zugeführtes Indigblau zu Isatin oxydirt und so die Quelle der Isatinfarbstoffe werden könne. Um diese Möglichkeit zu untersuchen, lag es am nächsten, Fütterungsversuche mit Indigblau zu unternehmen. Zugleich wollte ich auch die Angaben älterer Autoren prüfen, wonach ungelöster Indigo vom Organismus resorbirt und im Harn wieder ausgeschieden werden soll.

Zu diesem Zwecke stellte ich mir zunächst reines krystallinisches Indigblau nach der Vorschrift von Fritzsche[1]) dar. Diese Darstellungsweise beruht auf der Bildung von Indigweiss, das sich an der Luft leicht zu Indigblau oxydirt und krystallinisch niederschlägt. Man übergiesst 125 g rohen gepulverten Indigo mit heissem Alkohol und setzt eine Auflösung von 200 g concentrirter Natronlösung in heissem Alkohol zu. Dann füllt man die Flasche vollends mit heissem Alkohol, verschliesst sie und lässt sie ruhig stehen. Die klar gewordene Flüssigkeit wird abgezogen in flache Schalen und setzt nach und nach an der Luft krystallinisches Indigblau ab. Das Product wird durch Waschen mit Alkohol und heissem Wasser gereinigt.

Ich gab nun dem nämlichen Hunde mit der Nahrung ungefähr 2 g reines krystallinisches Indigblau. Der Harn wurde täglich gesammelt, auf dem Wasserbade bis zu $^1/_3$ seines Volumens eingedampft, mit Salzsäure versetzt und stehen gelassen. Allein weder nach Zusatz von blosser Salzsäure, noch nach Zusatz von Salzsäure und einigen Tropfen Chlorkalklösung (Jaffé) schied sich eine Spur von Indigblau oder rothen Farbstoffen ab; der Harn wurde nur dunkler gefärbt. Es wird daher entweder kein Indigblau, oder nur minimale, mit dieser Reaction nicht nachweisbare Mengen vom Darm resorbirt.

Um diesen Schluss vollständig beweiskräftig zu machen, wurden in einem zweiten Versuche nach Fütterung mit 2 g Indigblau die Excremente des Hundes, die er all 5 bis 6 Tage lässt, untersucht. Sie wurden in zwei Portionen gesammelt und jede Portion genau auf die gleiche Weise verarbeitet. Schon eine kleine Menge derselben, namentlich der ersten Portion, gab im Reagenzgläschen erhitzt die charakteristischen violetten Dämpfe und den Geruch des Indigblaus. Die Excremente wurden möglichst fein zertheilt mit Alkohol ausgezogen; der Rückstand wurde mit Wasser ausgekocht, getrocknet, gepulvert und durch Sieben von verschluckten Haaren und unverdauten Speiseresten befreit. Ich erhielt so von der ersten Portion 4.2294 g Substanz, welc[he]

[1]) Gerhardt, Org. Chem. 4, 568.

ganz das Aussehen von käuflichem Indigo hatte; von der zweiten Portion 7.0194 g.

Es galt nun, den Indigblaugehalt dieser beiden Substanzen zu ermitteln. Auf Herrn Prof. Nencki's Rath wählte ich hierzu die von Mohr[1]) angegebene Titrirmethode für Indigo. Diese beruht auf Zerstörung des blauen Farbstoffes durch den Sauerstoff einer Chamäleonlösung; die Färbekraft des Indigblaus ist proportional der zu seiner Zerstörung nothwendigen Menge von Chamäleonlösung. Tröpfelt man in eine schwefelsaure Indigolösung von bedeutender Verdünnung Chamäleonlösung, so geht die blaue Farbe der Lösung allmählich in eine grüne über; bei weiterem Zusatz wird sie mit einem Mal schmutzig gelb; dann ist die Operation vollendet.

Ich wog von der ersten Portion 1 g ab, brachte sie mit Glassplittern vermischt in ein Glas, setzte 15 g concentrirte Schwefelsäure hinzu, schüttelte mehrmals um und liess sie stehen. Nach mehreren Stunden schüttelte ich zu dieser Mischung Wasser und goss sie in ein Literglas; nachdem sorgfältig jede Spur der Substanz ins Literglas gespült war, wurde dieses bis zur Marke mit Wasser gefüllt. Ich hatte so 1 g der Substanz gleichmässig in 1000 ccm Wasser vertheilt und gelöst. Das Gleiche wiederholte ich mit der zweiten Portion, nur mit dem Unterschiede, dass ich davon 3.5 g abwog, weil sie mir ärmer an Indigblau zu sein schien. Ich hatte also 3.5 g der Substanz in 1000 ccm Wasser theils gelöst, theils suspendirt.

Die Chamäleonlösung war nach Mohr's Vorschrift so titrirt, dass 11.2 ccm Chamäleonlösung 0.0752 g Indigblau entfärben.

Ich mass von der ersten Lösung 200 ccm ab, welche 0.2 g der gelösten Substanz entsprechen, verdünnte sie mit Wasser und setzte Chamäleonlösung zu, bis die schmutzig gelbe Färbung eintrat. Dies geschah, nachdem ich gerade 11.2 ccm Chamäleonlösung verbraucht hatte. Es enthielten also 0.2 g der Substanz 0.0752 g Indigo.

Die ganze erste Portion enthält $\frac{4.2294 \cdot 0.0752}{0.2} = 1.590$ g Indigblau.

Von der Lösung der zweiten Portion nahm ich 250 ccm, welche 0.875 g der Substanz entsprechen, und verfuhr wie oben. Ich brauchte bis zur Reaction 7.6 ccm Chamäleonlösung, welche 0.051 g Indigblau entsprechen.

Die ganze zweite Portion enthielt $\frac{7.0194 \cdot 0.051}{0.875} = 0.409$ g Indigblau.

In den Excrementen fanden sich also $1.590 + 0.409 = 1.999$ g von dem eingeführten Indigblau wieder.

Dieser Versuch erschien mir vollständig hinreichend, um behaupten zu können, dass reines Indigblau unverändert den Darmcanal passire. Es wird dieses Resultat kaum befremden können, wenn man die Unlöslichkeit des Indigblaus bedenkt.

Die letztbetrachteten Farbstoffe, das Indigroth und das Indigbraun, sind, wie aus meinen Versuchen wohl unzweifelhaft hervorgeht, ebenfalls Derivate der Indigogruppe. Auf welche Weise diese in den Körper gelangt, ist freilich noch eine offene Frage. Ich glaube aber, wir müssen auch hier, wie beim Indigblau, vom Indol ausgehen,

[1]) Mohr, Titrirmethode, S. 168.

welches im Körper selber fortwährend gebildet wird. Nach unserer Ansicht haben alle hier betrachteten Harnfarbstoffe der Indigogruppe ihre Quelle in diesem Indol. Ein Theil desselben wird direct resorbirt und zu Indigblau oxydirt und verlässt als Indican im Harne den Körper; ein anderer Theil wird zu Oxindol, Dioxindol, Isatin oxydirt und liefert die beschriebenen Isatinfarbstoffe. Wie gering auch die Menge des im Körper gebildeten Indols sein mag, sie würde genügen, um die minimalen Mengen von Indigblau, Indigroth und Indigbraun im normalen Harne zu erklären. Die krankhaften Indigurien sind als Folge einer vermehrten Indolbildung, d. h. einer gestörten Pankreasverdauung aufzufassen.

Laboratorium des Herrn Prof. Nencki in Bern.
September 1874.

# 1875

## Ueber die Bildung des Indols aus dem Eiweiss

von

**M. Nencki.**

Ber. 8, 336.

Die in den Berichten (8, 206) enthaltene Abhandlung von W. Kühne über Indol aus dem Eiweiss veranlasst mich schon jetzt, vorläufig über meine mit einem meiner Schüler, Herrn Franz Frankiewicz, gemeinschaftlich im Laufe dieses Winters angestellten Untersuchungen zu berichten. Es ist uns nämlich gelungen, das Indol in Substanz aus dem Eiweiss darzustellen und sowohl durch Elementaranalysen als auch durch Schmelzpunktsbestimmung seine Identität mit dem von Baeyer aus Indigoblau erhaltenen Indol nachzuweisen. Die Darstellung des Indols aus Eiweiss ist ausserdem viel bequemer und weniger kostspielig als aus dem Indigoblau. Das Verfahren ist kurz folgendes: 300 g käuflichen Eiweisses aus Blut werden in einem dünnwandigen Becherglase von 5 Liter Inhalt mit $4^1/_2$ Liter Brunnenwasser übergossen und mit einem sorgfältig von Blut und Fett gereinigten und klein geschnittenen Ochsenpankreas (dessen Gewicht in frischem Zustande 300 bis 400 g beträgt) versetzt. Das Ganze wird nun mit einer Glasplatte zugedeckt und im Wasserbade auf 40 bis 45° C. 60 bis 70 Stunden lang ununterbrochen erhalten. Man lässt nach Verlauf dieser Zeit die Flüssigkeit erkalten, colirt sie durch ein leinenes Tuch, säuert mit Essigsäure an, um das unzersetzte Eiweiss in Lösung zu erhalten und so das Coaguliren und Schäumen des Albumens beim Kochen zu verhüten, und destillirt auf dem Sandbade aus einer tubulirten Retorte auf etwa ein Viertel des ursprünglichen Volumens ab. Das schwach trübe Destillat wird nach dem Filtriren wasserklar. Die filtrirte, saure Flüssigkeit (die Reaction

rührt von der mitübergegangenen Essig- und Valeriansäure her) wird nun mit Kalkhydrat bis zur alkalischen Reaction versetzt und mit dem gleichen Volumen Aether geschüttelt. Die klare, abgegossene, ätherische Lösung lässt nach dem Abdestilliren ein röthliches Oel mit dem charakteristischen Indolgeruch zurück. Dieses Oel, mit wenig Wasser versetzt, erstarrt nun nach einiger Zeit krystallinisch und ist aus reinem Wasser umkrystallisirt reines, bei 52° C. schmelzendes Indol.

Was den rothen Indolfarbstoff betrifft, so ist es mir bis jetzt noch nicht gelungen, seine Elementarzusammensetzung mit Sicherheit festzustellen. Versetzt man das aus der Verdauungsflüssigkeit erhaltene Destillat mit rother, rauchender Salpetersäure, so scheidet sich, falls man die richtige Menge Salpetersäure zugesetzt hat, der Farbstoff als ein voluminöser, hellrother Niederschlag ab, der unter dem Mikroskope betrachtet aus einem Haufen haarförmiger, rother Nädelchen besteht; setzt man jedoch eine ungenügende Menge Salpetersäure hinzu, so erhält man einen violetten Niederschlag, und auch die Mutterlauge ist stark violett gefärbt, während sie, falls der Farbstoff roth abgeschieden wurde, nur schwach röthlich gelb gefärbt erscheint. Das in dem Destillate befindliche Indol scheint dann vollständig in den rothen Farbstoff umgewandelt zu sein, welchen Umstand ich auch zur quantitativen Bestimmung des aus dem Eiweiss gebildeten Indols benutzte. Man erhält im Mittel aus mehreren Versuchen 0.3 Proc. rothen Farbstoffes von dem angewendeten Albumen. Dieser rothe Farbstoff wird durch Kochen mit Wasser zersetzt, wobei nicht Indol frei wird, sondern ein anderer braunrother Farbstoff entsteht, der sich in alkoholischer Kali- oder Natronlösung mit schön grüner, in concentrirter Schwefelsäure mit prächtig purpurrother Farbe löst und aus der letzteren Lösung durch Wasser in rothen Flocken gefällt wird, wie ich dies bereits in meiner ersten Mittheilung bemerkt habe. Der rothe Farbstoff, der in siedendem Wasser ziemlich leicht löslich ist, krystallisirt beim Erkalten der wässerigen Lösung in mikroskopischen, violettrothen Nädelchen aus. Am besten lässt er sich noch aus verdünnter Essigsäure umkrystallisiren. Die Analysen von verschiedenen Präparaten haben mich bis jetzt zu keinen übereinstimmenden Resultaten geführt. Am nächsten stimmen die gefundenen Zahlen auf die Formel des Nitrosoindols, wofür auch das sonstige Verhalten dieses Farbstoffes spricht. So enthielt der aus Essigsäure umkrystallisirte Farbstoff C 64.1, H 4.3, N 16.7 Proc. Die Formel $C_8H_6(NO)N$ verlangt: C 65.7, H 4.1, N 19.1 Proc. Ich hoffe jedoch darüber bald ins Klare zu kommen.

Den Entstehungsmodus des Indols aus dem Eiweiss, sowie dessen Beziehung zur Pankreasverdauung will ich erst dann ausführlich besprechen, wenn ich meine Untersuchungen hierüber erschöpfend durchgeführt habe.

Bern, den 12. März 1875.

# Ueber das Indol

von

**M. Nencki.**

Ber. **8**, 722. (Eingegangen am 24 Mai, verl. in der Sitzung des Herrn Oppenheim.)

Seitdem es mir gelungen ist, das Indol als ein Spaltungsproduct des Albumins nachzuweisen und es auch in relativ grösseren Mengen (bis 0.5 Proc.) aus dem letzteren zu gewinnen, habe ich mit vielem Interesse diese zum Theil schwierigen Untersuchungen fortgesetzt und zunächst meine Aufmerksamkeit dem durch Einwirkung von rauchender Salpetersäure auf wässerige Indollösung entstehenden rothen Farbstoff zugewendet. Da aber die ersten Analysen des aus Wasser oder verdünnter Essigsäure umkrystallisirten Körpers keine übereinstimmenden Zahlen ergaben, was von einer theilweisen Zersetzung herrührte, so musste nach einer anderen Reinigungsmethode gesucht werden. Es gelingt auch leicht, diesen rothen Körper ohne jede Zersetzung nach folgendem Verfahren rein zu gewinnen. Das von der Verdauungsflüssigkeit herrührende filtrirte Destillat wird in Portionen von 200 bis 300 ccm mit 5 bis 8 ccm rauchender Salpetersäure versetzt. Die Salpetersäure darf jedoch nicht zu viel salpetrige Säure enthalten und es ist nöthig, die käufliche Säure so weit abrauchen zu lassen, dass sie in einer etwa 1 cm dicken Schicht nur eine schwach röthlich gelbe Färbung behält. Enthält andererseits die Salpetersäure zu wenig salpetrige Säure, so bildet sich stets der schon früher erwähnte, violette, in concentrirter Schwefelsäure mit purpurrother Farbe lösliche Farbstoff. Werden die obigen Bedingungen eingehalten, so färbt sich das Destillat zunächst schön roth, wie arterielles Blut, und wird undurchsichtig. Beim ruhigen Stehen scheidet sich dann die rothe Substanz fast vollständig ab. Nach etwa 12 Stunden wird der entstandene Niederschlag abfiltrirt, mit Wasser gewaschen und zunächst auf Fliesspapier, sodann über Schwefelsäure getrocknet. Man löst das so erhaltene Product in möglichst wenig heissem, absolutem Alkohol auf, filtrirt heiss und versetzt das Filtrat so lange mit Aether, als noch ein Niederschlag entsteht. Der schön rothe, aus mikroskopischen Nadeln bestehende Niederschlag setzt sich rasch zu Boden, so dass die ätherische Lösung gut abgegossen werden kann. Man bringt ihn auf ein Filter, wäscht sorgfältig mit Aether aus, presst von der Lauge ab und trocknet über Schwefelsäure bis zu constantem Gewichte. Die Analysen der so erhaltenen Substanz, sowie ihr Verhalten gegen Alkalien und Reductionsmittel haben unzweifelhaft ergeben, dass erstens das Molekulargewicht des Indols $= C_{16}H_{14}N_2$ ist, d. h. dass die von Berger aus den Analysen des Indols abgeleitete Formel $C_8H_7N$ verdoppelt werden

muss, und zweitens, dass dieser rothe Farbstoff salpetersaures Nitrosoindol ist $= C_{16}H_{13}(NO)N_2NO_3H$.

Das salpetersaure Nitrosoindol löst sich in Alkohol leicht mit dunkelrother Farbe auf, nur sehr wenig in Wasser und Aether, in salpetersäurehaltigem Wasser ist es fast gänzlich unlöslich. Diese Verbindung ist wenig beständig, sie zersetzt sich schon beim Trocknen im Vacuum. Durch längeres Kochen mit Wasser wird sie unter Gasentwickelung fast vollständig zersetzt. Ich habe die hierbei auftretenden Producte nicht näher untersucht, nur sei es bemerkt, dass daraus kein Indol entsteht. Trocken erhitzt, verpufft es heftig und die Elementaranalysen des Nitrosoindols mussten mit besonderer Vorsicht durch Verbrennen eines innigen Gemisches der Substanz mit Bleibichromat ausgeführt werden. Verbrennungen mit Kupfersäure im Platinschiffchen missglückten stets, indem die Substanz unter Entwickelung von nach Nitrophenol riechenden Dämpfen explodirte. Es wurden folgende Zahlen erhalten:

| Gefunden | | | Salpetersaures Nitrosoindol $C_{16}H_{13}(NO)N_2NO_3H$ verlangt |
|---|---|---|---|
| I. | II. | III. | |
| C 59.58 Proc. | C 57.87 Proc. | C 58.88 Proc. | C 58.89 Proc. |
| H 4.46 „ | H 4.45 „ | H 4.79 „ | H 4.29 „ |
| N 16.85 „ | | N 17.04 „ | N 17.17 „ |

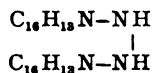
In verdünnter Kali- oder Natronlauge löst sich dieses Salz leicht auf, aus welcher Lösung durch Salzsäure das stets unbeständige salzsaure Salz in rothen, amorphen Flocken abgeschieden wurde.

Es ist mir nicht gelungen, das freie Nitrosoindol in reinem Zustande zu erhalten. Aus der alkalischen Lösung scheidet sich nach Zusatz von Essigsäure, zunächst in gelben Flocken, die aber sehr rasch schön roth werden, ein Product aus, das, auf dem Filter ausgewaschen und getrocknet, keine Essigsäure enthält, das aber nicht mehr Nitrosoindol, sondern Nitroindol zu sein scheint. Die Analysen dieses Productes haben stets für die Formel des Nitrosoindols zu geringen Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt ergeben. So wurde gefunden:

C 69.01, H 4.48, N 14.74 und 14.26 Proc.
Nitrosoindol verlangt: C 73.00, H 4.94, N 15.81 Proc.
Nitroindol: C 68.8, H 4.66 und N 15.05 Proc.

Auch löst sich die Substanz beim Auswaschen immer mehr in Wasser auf und nimmt saure Reaction an. Die von dem ausgefällten Nitrosoindol abfiltrirte Lauge hinterliess auf dem Wasserbade verdunstet einen mit nur wenig Farbstoff verunreinigten Rückstand, aus essig- und salpetersaurem Kalium bestehend. Ich habe daraus durch Waschen mit wenig Alkohol Salpeter in reinem Zustande dargestellt, wovon ich mich durch die Krystallform, kühlen, bitteren Geschmack, Bildung von rothen Dämpfen mit metallischem Kupfer und Schwefelsäure und anderen für die Salpetersäure charakteristischen Reactionen überzeugte. Von reducirenden Agentien in saurer oder alkoholischer Lösung wird die rothe Nitrosoindollösung rasch entfärbt. Die

geringen Quantitäten, mit denen ich stets zu arbeiten genöthigt war, haben mich bis jetzt verhindert, das Amidoindol zu erhalten, dagegen habe ich durch Reduction mittelst alkoholischen Schwefelammoniums aus dem Nitroso- das Hydroazoindol

$$\begin{array}{c} C_{16}H_{13}N-NH \\ | \\ C_{16}H_{13}N-NH \end{array}$$

dargestellt.

Die Ausbeute ist hier fast theoretisch und es kann dazu statt des durch Auflösen in Kali und Fällen mit Essigsäure erhaltenen Productes ebenso gut auch das salpetersaure Salz verwendet werden. Das Verfahren ist folgendes: Reines salpetersaures Nitrosoindol wird in wenig heissem Alkohol gelöst, die alkoholische Lösung mit wässerigem Ammoniak versetzt, nöthigenfalls filtrirt und Schwefelwasserstoff durchgeleitet. Nach kurzer Zeit entfärbt sich die Flüssigkeit und gleichzeitig scheidet sich das Reductionsproduct in glänzenden, gelben Nadeln aus. Sobald sich ihre Menge nicht mehr vermehrt, werden sie auf ein Filter gebracht, sorgfältig mit Alkohol ausgewaschen, zwischen Fliesspapier abgepresst und über Schwefelsäure getrocknet. Diese Operation muss möglichst rasch ausgeführt werden, da die Substanz an der Luft im feuchten Zustande sich bald braun färbt. Völlig farblos konnte ich sie nie erhalten und es scheint, dass die gelblich graue Färbung ihr eigenthümlich ist. Die Analysen der Substanz ergaben folgende Zahlen:

| | Gefunden: | | | Nach der Formel $(C_{16}H_{13}N_2)N_2H_2$ berechnet: |
|---|---|---|---|---|
| | I. | II. | | |
| C | 77.68 Proc. | 77.57 Proc. | C | 77.42 Proc. |
| H | 5.62 „ | 5.88 „ | H | 5.64 „ |
| N | 16.81 „ | | N | 16.93 „ |

Das Hydroazoindol ist in Wasser unlöslich, auch von Alkohol wird es in der Kälte nur wenig gelöst. Es löst sich ziemlich leicht in Aether und Chloroform, aus welchen Lösungsmitteln es sich jedoch nicht umkrystallisiren lässt. Als in einem Versuche das Hydroazoindol in möglichst wenig Aether gelöst wurde, hinterliess der im Vacuum verdunstete Aether einen dunkeln, harzigen Rückstand, der nicht mehr zum Krystallisiren gebracht werden konnte. Trocken erhitzt, schmilzt das Hydroazoindol bei etwa 140° C. zu einer tiefblauen Masse, die bei höherer Hitze unter Entwickelung von Ammoniak verkohlt. In concentrirter $SO_4H_2$ löst sich das Hydroazoindol mit gelber Farbe, die beim Erwärmen ins Rothe übergeht. Von Säuren und Alkalien, namentlich in alkoholischer Lösung, wird es in einen Farbstoff übergeführt. Zur Darstellung desselben wurde das Hydroazoindol in alkoholischer Kalilösung gelöst und gelinde erwärmt. Die tiefblaue Lösung, mit Salzsäure versetzt, färbte sich purpurroth und nach dem Verdunsten des Alkohols schied sich der Farbstoff, gemengt mit Chlorkaliumkrystallen, als körniger Niederschlag aus. Durch Waschen mit Wasser von Chlorkalium befreit und an der Luft getrocknet ist der Farbstoff ein dunkelbraunes, in heissem Wasser kaum lösliches Pulver, leicht löslich dagegen in Alkohol und Aether mit carminrother Farbe. Auch in verdünnten Mineralsäuren, namentlich aber in Eisessig, ist er mit tief purpurrother Farbe löslich. In dem letzteren Lösungsmittel

heiss gelöst, scheidet er sich beim langsamen Erkalten in kugeligen Krystall‹
In wässerigen Alkalien ist er kaum löslich, leicht dagegen mit tiefblauer Fa
alkoholischem Ammoniak. Trocken erhitzt, verkohlt er mit dem Geruch
verbranntem Indigo, ohne zu sublimiren. Ich beabsichtigte diesen Farbstoff, der
wahrscheinlich Azoindol ist, genauer zu untersuchen.

Das Indol ist ein bei der Digestion mit Pankreas aus dem Eiweiss entste
Product und zwar ist die Ausbeute aus Serum- und Eiereiweiss ziemlich die g

Leim mit Ochsenpankreas digerirt liefert so wenig Indol, dass diese min
Mengen nur vom Eiweiss der Drüse herrühren können. Von Einfluss auf die Aı
ist die Zeit und auch die Temperatur. Nach meinen späteren Beobachtunge
nach vier- bis fünftägigem Digeriren die grösste Menge Indol erhalten.
längeres Stehen wird die Ausbeute nicht erhöht; die günstigste Temperatur sch
zwischen 40 bis 45° C. Im Verlauf der ganzen Verdauung findet stetig Gasentwic
statt. Ich habe die Gase nicht näher untersucht, da es bereits durch die
suchungen Hüfner's und Anderer bekannt ist, dass sie hauptsächlich aus C(
H bestehen. Auch ist Luftzutritt für den günstigen Verlauf dieses Processes

Die Verdauungsflüssigkeit enthält danach sehr viel kohlensaures Amn
was man bei der heftigen Gasentwickelung beim Ansäuern der Flüssigkeit mi
säure ersehen kann; auch gerinnt beim Erhitzen nur wenig oder gar kein Eiweiss

Um mich zu überzeugen, ob in den von der Verdauungsflüssigkeit herrüh
Destillaten ausser dem Indol noch andere Substanzen enthalten seien, habe ic
Ausfällung des Indols mit rother Salpetersäure das salpetersaure Filtrat mit Ka
neutralisirt und auf dem Wasserbade eingedampft. Die erhaltene Salzmasse
sodann mit Salzsäure zerlegt, wobei sich ausser Essigsäure eine ölige, auf dem
schwimmende, mit Farbstoff verunreinigte Flüssigkeit in geringer Menge abgesc
hat. Sie wurde nach dem mehrfachen Waschen mit Wasser aus einem Fra
kölbchen destillirt und ergab sich schon bei der zweiten Rectification als rei
175° C. siedende Valeriansäure. Andere Fettsäuren, namentlich Buttersäure,
ich nicht mit Sicherheit nachweisen; auch die Menge der entstehenden Valeri
ist sehr gering, sie schwankt aus 1 kg Eiweiss zwischen 5 bis 10 g.
möchte ich hinzufügen, dass, um aus den Verdauungsdestillaten reines Indol
Ausziehen mit Aether zu gewinnen, sie zweckmässiger mit Natron neutralisirt w
Auch kann aus den nach Umkrystallisiren des Indols erhaltenen Laugen
Zusatz von Natron noch etwas Indol abgeschieden werden. Die Analysen de
Abdestilliren des Aethers hinterbliebenen öligen und aus Wasser umkrystal
Indols ergaben folgende Zahlen:

| Gefunden nach einmaligem Umkrystallisiren | Gefunden nach zweimaligem Umkrystallisiren | Berechnet nach der Formel $C_{16}H_{14}N_2$ |
|---|---|---|
| C 81.51 Proc. | C 81.81 Proc. | C 82.05 Proc. |
| H 6.48 „ | H 6.30 „ | H 5.98 „ |
| N — „ | N 11.71 „ | N 11.96 „ |

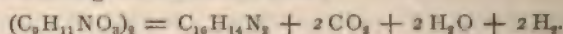
Indol wird von oxydirenden Agentien (Kaliumbichromat und Schwef‹
verdünnter Salpetersäure, chlorsaurem Kali und Salzsäure) leicht angegriffe

bilden sich dabei neben harzigen Producten rothe Farbstoffe, deren genauere Untersuchung nicht im Plane dieser Arbeit lag. Nur die Umwandlung des Indols zu Indigblau war für mich von besonderem Interesse, da diese Art der Oxydation eine normal im Thierkörper vorkommende ist; da wir aber mehrere Beobachtungen besitzen, dass die Oxydationen im Thierkörper durch den von den rothen Blutkörperchen gebundenen Sauerstoff und zwar als Ozon erfolgen, so habe ich bei Zimmertemperatur einen langsamen Strom durch stille elektrische Entladung ozonisirter Luft durch in Wasser suspendirtes Indol streichen lassen und hatte das Vergnügen, zu sehen, dass der Versuch diese Voraussetzung bestätigte, wobei ich dankbar bemerke, dass Herr Staatsapotheker Perrenoud mir seinen von Siemens und Halske construirten Ozonisationsapparat zur Verfügung stellte. Das in kleinen Portionen zu etwa 0.1 g in wenig Wasser suspendirte Indol färbte sich nach drei- bis vierstündigem Durchleiten immer dunkler und an den Wänden des Gefässes setzte sich ein blauer Niederschlag ab. Nach zehn- bis fünfzehnstündigem Durchleiten der ozonisirten Luft wurde der Niederschlag, hauptsächlich aus verharztem Indol bestehend, von der gelbgefärbten Lauge abfiltrirt und auf dem Filter mit Aether gewaschen. Der in Aether unlösliche blaue Rückstand war in kaltem Alkohol nicht, in heissem dagegen etwas mit blauer Farbe löslich. In concentrirter Schwefelsäure löste er sich mit gelbgrüner Farbe, die beim Erhitzen in Blau überging. Trocken erhitzt, verflüchtigte er sich mit purpurnen Dämpfen, kurz hatte alle Eigenschaften des Indigblaus. Die Ausbeute des so aus Indol erhaltenen Indigblaus ist indessen sehr gering, da das letztere von Ozon zerstört wird und die Operation auf halbem Wege, noch bevor alles Indol verändert worden, unterbrochen werden muss. Es genügte mir auch, den Nachweis für die Entstehung des Indigblaus auf diesem Wege zu führen, da diese Beobachtung ein wesentliches Moment für die Beurtheilung des Oxydationsmodus im Thierkörper ist. Jedenfalls müssen im Organismus Bedingungen vorhanden sein, die das aus dem Indol entstandene Indigblau vor weiterer Zerstörung schützen. Bekanntlich wird angenommen, dass das Indigblau mit Zucker gepaart als Indican ausgeschieden wird. Ich hoffe durch Verabreichung grösserer Dosen Indol an Hunde den wahren Sachverhalt festzustellen, zumal ich gesehen habe, dass mein Versuchshund, mit 1 g Indol gefüttert, keine Intoxicationserscheinungen zeigte und dass aus dem darauf gelassenen Harne ich durch Salzsäure und Chlorkalklösung Indigblau in grösseren Quantitäten abgeschieden habe.

Noch bevor der üble Geruch der Verdauungsflüssigkeit deutlich wahrnehmbar ist, zeigt ein Tropfen derselben unter dem Mikroskop organisirte Gebilde, Körnchen und Stäbchen, deren Menge nach Verlauf von 2 bis 3 Tagen ausserordentlich zunimmt. Die ersten (Mikrococcen) sind kleine Kügelchen von 0.0016 bis 0.0024 mm im Durchmesser, stark lichtbrechend und meistens in lebhafter, molekularer Bewegung begriffen. Die zweiten, Stäbchen (Bacterien), haben nach den verschiedensten Richtungen vorwärts gleitende oder auch rotirende Bewegung. Ihre Länge beträgt im Mittel 0.008 mm, die grössten haben die Länge von 0.016, die kleinsten von 0.0045 mm. Ihre Breite beträgt höchstens 0.0008 mm. Oefters erscheinen die Kügelchen terminal an Stäbchen haftend, so dass das Ganze das Aussehen einer stumpfen Stecknadel hat. Diese niedrigen Organismen fehlen nie

bei der künstlichen Pankreasverdauung, sobald die Drüsensubstanz verwendet wird und nicht das künstliche Ferment. Es geht dies aus den interessanten Versuchen Hüfner's[1]) hervor und ich bezweifle nicht im Mindesten, dass, wie es auch Tiegel zeigte, schon im lebendigen Körper das Pankreas Sitz dieser Organismen ist. Wenn nun nach den übereinstimmenden Angaben von Kühne und Hüfner das reine Pankreasferment nicht im Stande ist, aus dem Eiweiss Indol zu bilden, so unterliegt es trotzdem keinem Zweifel, dass das Indol ein normales Product der Darmverdauung ist. Denn abgesehen davon, dass in den Excrementen sich stets Indol nachweisen lässt, ist das constante Auftreten des Indigblaus im Harne, das ja unzweifelhaft vom Indol abstammt, ein nicht minder sicherer Beweis dafür. Wenn die Bildung des Indols bedingt ist durch den Lebensprocess der Bacterien, so finden hier die Resultate der Pasteur'schen Untersuchungen von Neuem ihre Bestätigung, denn schwerlich dürfte jemandem, der sich mit der mikroskopischen Untersuchung des normalen Darminhalts beschäftigte, die Anwesenheit der Mikrococcen und Bacterien entgehen. Es geht hieraus hervor, dass die normale Darmverdauung zum guten Theil Fäulniss, d. h. Zersetzung des Albumins durch niedere Organismen ist. Mit dem Abschluss der vorliegenden Arbeit habe ich Untersuchungen über die Zersetzung der Kohlehydrate durch Pankreas bei Anwesenheit von Bacterien begonnen und es ist sehr wahrscheinlich, dass das Vorkommen von Milchsäure, Buttersäure und anderen Producten im Darme auf Gährung, d. h. Zersetzung des Zuckers durch Bacterien beruht.

Für die Beurtheilung der molekularen Structur des Eiweisses ist es von Wichtigkeit, zu erfahren, ob das Indol als solches in seinem Molekül enthalten ist, oder ob es erst secundär aus einem seiner schon bekannten Spaltungsproducte gebildet werde. Nach dem Tyrosin ist das Indol die zweite aus dem Eiweiss erhaltene aromatische Substanz und es ist auffallend, dass aus dem Leim, welcher mit verdünnten Säuren und Alkalien, oder auch mit Pankreas digerirt kein Tyrosin, sondern nur Leucin und Glycocoll liefert, Indol nur in Spuren erhalten wurde. Es war die Möglichkeit vorhanden, dass das Indol erst secundär aus dem Tyrosin durch eine eigenthümliche Gährung entstehe, die man durch folgende Gleichung ausdrücken könnte:

$$(C_9H_{11}NO_3)_2 = C_{16}H_{14}N_2 + 2\,CO_2 + 2\,H_2O + 2\,H_2.$$

Die Versuche, die ich nach dieser Richtung hin mit Tyrosin und Ochsenpankreas anstellte, haben mir kein entschiedenes Resultat ergeben. Die geringen Quantitäten des erhaltenen Indols hätten auch von Eiweiss der Drüse herrühren können und es wäre wünschenswerth, dass andere Chemiker, die sich im Besitz grösserer Quantitäten Tyrosins befinden, diesen Versuch wiederholen möchten. Zum Schluss benutze ich die Gelegenheit, Herrn J. H. Jäger aus Leipzig meinen aufrichtigen Dank auszusprechen für den ausgezeichneten Eifer und die Geschicklichkeit, womit er mich bei der Ausführung dieser Arbeit unterstützte.

Bern, im Mai 1875.

[1]) Journal f. praktische Chemie **10**, 1; **11**, 43.

# Ueber den Stickstoff- und Eiweissgehalt der Frauen- und Kuhmilch

von

M. Nencki.

Ber. 8, 1046. (Eingegangen am 2. August.)

Die quantitative Zusammensetzung der Frauenmilch ist trotz der zahlreichen Analysen verschiedener Autoren keineswegs genügend ermittelt. Namentlich bieten die nach verschiedenen Methoden für den Eiweissgehalt erhaltenen Zahlen so wenig Uebereinstimmung, dass schon der Umstand allein Misstrauen in ihre Zuverlässigkeit erwecken muss. Während z. B. Vernois und Becquerel für die Frauenmilch den Gehalt von Caseïn im Mittel zu 3.92 Proc. angeben, findet Th. Brunner[1]) nach einer von ihm als sehr genau bezeichneten Methode nur 0.63 Proc. Eiweiss im Mittel aus 18 Analysen. Nach den letzthin von Gerber[2]) publicirten Bestimmungen würde die Frauenmilch 1.79 Proc. Eiweiss enthalten.

Auch die nach gleichem Verfahren erhaltenen Zahlen schwanken innerhalb sehr weiter Grenzen, so in den Analysen von Brunner zwischen 0.18 bis zu 1.54 Proc.

Die Erforschung des wahren Sachverhaltes wurde um so wünschenswerther, als Brunner die auffallende Angabe machte, dass die Frauenmilch 2.3 bis 4.8 mal mehr Stickstoff enthalte, als es ihrem Gehalt an Eiweisskörpern entspricht. Es ist dies ein Resultat von nur zwei vergleichenden Analysen. Der Stickstoffgehalt der mit Marmor eingetrockneten Milch wurde durch Glühen mit Natronkalk nach der Will-Varrentrapp'schen Methode bestimmt. Aus dem Stickstoff berechnet, würde die Frauenmilch 1.2 und 1.38 Proc. Eiweiss enthalten, während die directe Bestimmung nur 0.25 und 0.59 Proc. an Eiweisssubstanzen ergab.

Durch dies grosse Missverhältniss zwischen dem direct gefundenen und aus dem Stickstoff berechneten Eiweissgehalt veranlasst, habe ich gemeinschaftlich mit Herrn P. Lachenal die bisher für die directe Bestimmung des Eiweisses üblichen Methoden einer vergleichenden Prüfung unterworfen. Gleichzeitig mit dem Eiweiss wurde in der Milch auch der Gesammtstickstoff bestimmt. Die zu der Untersuchung erforderliche Frauenmilch hat uns Herr Conrad mit grosser Bereitwilligkeit zugestellt. Sie wurde stets frisch, wenige Stunden nachdem sie der Brustdrüse entnommen, für die Analyse verwendet. Für die directe Eiweissbestimmung haben wir verschiedene

[1]) Pflüger's Archiv für Physiologie. Jahrg. 1873, S. 440.

[2]) Bull. de la soc. chim. 23, 342.

Methoden versucht: so die Fällung der kochenden Milch mit Essigsäure, Einleiten von Kohlensäure, Eintragen von Kochsalz oder schwefelsaurem Natron in die angesäuerte, kochende Milch. Stets war die Coagulation des Eiweisses unvollständig und im Filtrate Eiweiss nachweisbar. Auch das von Gerber empfohlene Eindampfen der Milch auf ein Viertel des ursprünglichen Volumens gab keine besseren Resultate. Den Stickstoffgehalt der Milch habe ich stets nach der volumetrischen Methode von Dumas bestimmt. Zu dem Zwecke wurden 5 ccm genau abgewogener Milch in einem Porcellantiegel Anfangs mit gut ausgewaschenem, gut ausgeglühtem Sand bei 100° C. im Luftbade getrocknet. Später, da die so getrocknete Milch beim Glühen mit Kupferoxyd stets etwas schwer verbrennbare Kohle hinterliess, habe ich die Milch mit gepulvertem $PbCrO_4$ im Vacuum über $SO_4H_2$ getrocknet und kann dies Verfahren für die Elementaranalyse anderer, selbst leicht zersetzbarer thierischer Flüssigkeiten empfehlen. In Betreff der übrigen Details verweise ich auf die ausführliche Mittheilung von Herrn Lachenal in den Archives de physiologie normale et pathologique[1]).

Die Analyse der Frauenmilch ergab nun folgende Zahlen:

| Nr. | Tag nach der Geburt | Eiweiss direct gefunden | Eiweiss aus dem direct bestimmten Stickstoff berechnet[2]) |
|---|---|---|---|
| 1. | 12 | 1.6 Proc. | 2.26 Proc. |
| 2. | 13 | 1.26 „ | 2.26 „ |
| 3. | 15 | 1.25 „ | 2.70 „ |
| 4. | 4 | 2.3 „ | 3.19 „ |
| 5. | 8 | 1.3 „ | 2.40 „ |
| 6. | 9 | 1.12 „ | 2.94 „ |
| 7. | 10 | 1.12 „ | 1.77 „ |
| 8. | 4 | 1.38 „ | 2.75 „ |
| | Im Mittel | 1.41 Proc. | 2.53 Proc. |

Gut stimmende Zahlen erhielten wir dagegen in zwei vergleichenden Analysen der Kuhmilch. Das Eiweiss wurde hier durch Eintragen von Kochsalz in die heisse mit Essigsäure angesäuerte Milch gefällt.

| Eiweiss direct gefunden | Eiweiss aus dem Stickstoff berechnet |
|---|---|
| 3.20 Proc. | 3.14 Proc. |
| 3.12 „ | 3.14 „ |

Bei Gelegenheit einer früheren Untersuchung[3]) habe ich den Stickstoffgehalt

[1]) Erschienen nur als Dissertation im Jahre 1876 Genève. De la quantité de caséine et d'azot contenue dans le lait de femme et dans le lait de vache. (H.)

[2]) Der Stickstoffgehalt des Eiweisses ist zu 15.5 Proc. angenommen.

[3]) Ueber den Einfluss der Muskelarbeit auf die Eiweisszersetzung von Felix Schenk im Archiv für exper. Pathol. 2, 26. — Dieser Band, S. 64.

der Milch einer anderen Kuh nach der volumetrischen Methode bestimmt. Der aus dem gefundenen Stickstoff berechnete Eiweissgehalt war 3.94 und 3.85 Proc.

Die Frauenmilch enthält demnach im Mittel aus 8 Analysen 2.53 Proc. Eiweiss, die Kuhmilch im Mittel aus 4 Analysen 3.5 Proc., also 1 Proc. Eiweiss mehr als die Frauenmilch. Ich will dabei bemerken, dass in der Frauenmilch ausser dem Eiweiss keine andere stickstoffhaltige Substanz — Harnstoff oder Kreatin — vorzukommen scheint, da die Alkoholauszüge der enteiweissten und eingedampften Milch sich stets stickstofffrei zeigten. Aus den obigen Zahlen geht die Unzulässigkeit der bisher angewandten directen Eiweissbestimmungsmethoden hervor. Durch die freundliche Vermittelung des Herrn Maly erfahre ich indessen, dass es Herrn Liebermann in Innsbruck gelungen ist, durch Fällung der Milch mit essigsaurer Tanninlösung sämmtliche Eiweissstoffe daraus abzuscheiden.

Bern, im Juli 1875.

---

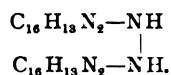
## Ueber die Dampfdichte des Indols

von

**M. Nencki.**

Ber. 8, 1517. (Eingegangen am 22. November.)

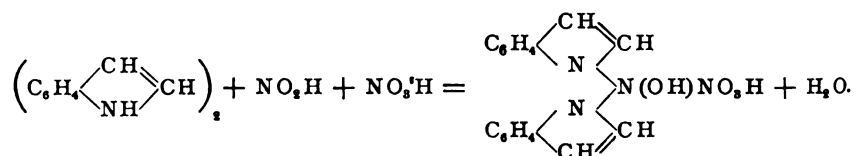
Die Resultate der in den Berichten beschriebenen Untersuchungen über das Indol[1]) haben mich zu der Annahme geführt, dass die Molekularformel des Indols $C_{16}H_{14}N_2$ ist. Der rothe, durch Einwirkung von rauchender Salpetersäure auf Indol entstehende Farbstoff wäre den Analysen zufolge das salpetersaure Salz des Nitrosoindols $= C_{16}H_{13}(NO)N_2NO_3H$ und der aus ihm durch Reduction mittelst alkoholischen Schwefelammoniums entstehende Körper, das Hydroazoindol =

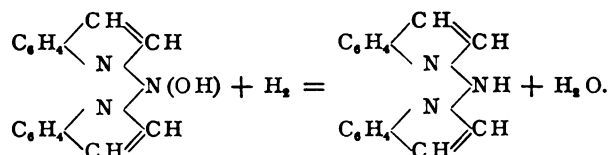
$$\begin{array}{l} C_{16}H_{13}N_2-NH \\ \qquad\qquad\quad | \\ C_{16}H_{13}N_2-NH. \end{array}$$

Da die Feststellung des Molekulargewichtes des Indols für das Verständniss der Constitution der ganzen Indigogruppe von Wichtigkeit ist, so habe ich versucht, durch die Dampfdichtebestimmung des Indols die Frage endgültig zu entscheiden. Zu dem Zwecke wurden grössere Quantitäten Indol aus Eiweiss nach dem von mir angegebenen Verfahren dargestellt und zunächst ein Theil davon in einem Kölbchen

[1]) Ber. 8, 722. — Dieser Band S. 115.

auf dem Quecksilberbade bis zum Sieden erhitzt. Das Indol siedete einige Zeit constant bei 245 bis 246° C. Es bräunte sich jedoch hernach sehr stark und war, wie schon Baeyer bemerkte, nicht ohne Zersetzung überzudestilliren. An eine Dampfdichtebestimmung nach der Dumas'schen Methode war demnach nicht zu denken. Dagegen war es noch immer wahrscheinlich, dass in dem Vacuum des Hofmann'schen Apparates bei entsprechend hoher Temperatur das Indol sich ohne Zersetzung vergasen würde. Nachdem der Versuch zeigte, dass die Temperatur des Anilindampfes zu niedrig war, wurde das siedende Naphtalin als Bad gewählt. Bei dieser Temperatur, 218° C., vergaste das Indol vollständig und ohne Zersetzung. Nach Beendigung des Versuches wurde das im Messrohr krystallinisch erstarrte Indol mit Aether ausgezogen, der Aether auf einem Uhrglase verdunstet und der Schmelzpunkt der zur Dampfdichtebestimmung verwendeten Probe bestimmt. Die Proben schmolzen im Capillarröhrchen stets bei 52° C., bei welcher Temperatur auch das reine Indol schmilzt. In drei Bestimmungen, die ich zum Theil unter Beihülfe des Herrn Grabowski ausgeführt habe, wurde die Dampfdichte des Indols auf Luft bezogen = 4.40, 4.62 und 4.33 gefunden. Es ergiebt sich hieraus das Molekulargewicht des Indols = $C_8H_7N$, nach welcher Formel die berechnete Dampfdichte = 4.05 ist.

Dieses Resultat widerspricht meiner ursprünglichen Annahme und es geht hieraus hervor, dass auch die von mir analysirten Derivate des Indols in keiner so einfachen Beziehung zu ihm stehen. Um die analytischen Resultate mit der einfachen Formel des Indols in Einklang zu bringen, kann man annehmen, dass die Einwirkung der rauchenden Salpetersäure auf Indol etwa nach folgendem Schema erfolge:

$$\left(C_6H_4\left\langle {CH \atop NH} \right\rangle CH\right)_2 + NO_2H + NO_3H = \begin{array}{l} C_6H_4\left\langle {CH \atop N} \right\rangle CH \\ \qquad\qquad > N(OH)NO_3H + H_2O. \\ C_6H_4\left\langle {N \atop CH} \right\rangle CH \end{array}$$

Die Reduction aber des Farbstoffes durch alkoholisches Schwefelammonium erfolge nach der Gleichung:

$$\begin{array}{l} C_6H_4\left\langle {CH \atop N} \right\rangle CH \\ \qquad\qquad > N(OH) + H_2 = \\ C_6H_4\left\langle {N \atop CH} \right\rangle CH \end{array} \begin{array}{l} C_6H_4\left\langle {CH \atop N} \right\rangle CH \\ \qquad\qquad > NH + H_2O. \\ C_6H_4\left\langle {N \atop CH} \right\rangle CH \end{array}$$

Die Formel $C_{16}H_{13}N_3$ des Reductionsproductes unterscheidet sich von der ursprünglich von mir aus den Analysen abgeleiteten Formel: $C_{16}H_{14}N_3$ nur durch ein Minus von einem H, oder in Procenten

| für $C_{16}H_{13}N_3$ berechnet: | | für $C_{16}H_{14}N_3$ berechnet: | |
|---|---|---|---|
| C | 77.73 Proc. | C | 77.42 Proc. |
| H | 5.26 „ | H | 5.64 „ |
| N | 17.01 „ | N | 16.93 „ |

Ich habe diese Substanz noch einmal dargestellt und analysirt. Die erhaltenen Zahlen stimmen gut mit den früheren Analysen überein, lassen jedoch bei dem geringen Unterschiede in der procentischen Zusammensetzung die Annahme der einen oder der anderen von den obigen Formeln unentschieden. So wurde gefunden:

| | | |
|---|---|---|
| C 77.68 Proc. | C 77.57 Proc. | C 77.24 Proc. |
| H 5.62 „ | H 5.88 „ | H 5.60 „ |
| N 16.81 „ | | |

Hoffentlich wird die fortgesetzte Untersuchung des Indols und seiner Derivate, namentlich aber des durch Einwirkung von Alkalien oder Säuren auf das Reductionsproduct entstehenden Farbstoffes die richtige Zusammensetzung und die Beziehung dieser Substanzen zum Indol aufklären können.

Bern, im November 1875.

---

# Blut

von

**M. Nencki.**

Artikel im Handwörterbuche der Chemie von H. Fehling (Braunschweig) II. 2, 105.

Das in dem Gefässsystem der Wirbelthiere circulirende arterielle und venöse Blut besteht aus den morphotischen Elementen (rothen und weissen Blutzellen) und der Blutflüssigkeit, dem Plasma, in welcher jene suspendirt sind. Es ist eine rothe, undurchsichtige, alkalisch reagirende flüssige Masse, deren specif. Gewicht beim Menschen zwischen 1.045 bis 1.075 schwankt. Die Menge des im menschlichen Körper enthaltenen Blutes beträgt etwa $^1/_{13}$, bei Neugeborenen etwas weniger, etwa $^1/_{19}$ des Körpergewichtes. Die normalen Bestandtheile des Blutes sind: Wasser, Fibrin, Albumin, Hämoglobin, Fette und fettsaure Alkalien, Lecithin, Cholesterin, in sehr geringer Menge Harnstoff, Traubenzucker, Kreatin und Kreatinin, Harnsäure, Hippursäure; ferner unorganische Salze: phosphorsaure, schwefelsaure und kohlensaure Alkalien, Chlornatrium und Chlorkalium, phosphorsaures Kalium und Magnesium, Eisen und Spuren von Kieselsäure; ausserdem enthält das Gesammtblut noch Gase und zwar Kohlensäure, Sauerstoff und Stickstoff. In pathologischen Zuständen sind ferner im menschlichen Blute nachgewiesen worden: flüchtige Fettsäuren (Ameisen-, Essig- und Buttersäure), Milchsäure, Gallensäuren, Gallenfarbstoff, Glutin, Sarkin, Leucin, Tyrosin und kohlensaures Ammonium.

Wenige Minuten nach dem Austreten aus den Blutgefässen gerinnt das Blut, d. h. die Blutflüssigkeit verwandelt sich in eine feste gallertige Masse. Dieser Vorgang beruht auf der Ausscheidung eines festen Körpers, des Fibrins, aus dem Plasma. Blutflüssigkeit minus Fibrin wird mit dem Namen Blutserum bezeichnet. In kleinen Quantitäten kann man auch bei gewöhnlicher Temperatur ausserhalb des

Organismus die Blutflüssigkeit getrennt von den morphotischen Bestandtheilen zur Untersuchung gewinnen. Froschblut, direct aus den geköpften Thieren in $^{1}/_{2}$ proc. Zuckerwasser getröpfelt, gerinnt langsam genug, um die Trennung der darin suspendirten ziemlich grossen (etwa neun Mal grösseren als die menschlichen) Blutkörperchen von dem Plasma durch ein grobporiges Filtrirpapier zu gestatten. Das farblose Filtrat erstarrt nach kurzer Zeit zu einer zitternden Gallerte — dem Fibrin, welches, indem es sich zusammenzieht, aus sich eine ebenfalls farblose Flüssigkeit, das Blutserum, auspresst. Um grössere Quantitäten des Blutplasmas zu gewinnen, wird Pferdeblut in hohe dünnwandige Glascylinder, welche in einer Kältemischung sich befinden, direct aus der Ader aufgefangen. Nach etwa einstündigem Stehen hat sich die Blutsäule in drei Schichten gesondert: eine untere dunkelrothe undurchsichtige, welche etwas mehr als die Hälfte der Höhe der Säule bildet, eine mittlere graue undurchsichtige, etwa $^{1}/_{20}$ von der Ausdehnung der unteren betragend und eine obere bernsteingelbe durchsichtige Flüssigkeit. Diese letztere ist reines Plasma, die mittlere Plasma mit farblosen Blutkörperchen, die untere wenig Plasma mit dicht gedrängten rothen Blutkörperchen durchsetzt (Kühne[1]). Bei Temperaturen unter 0° ist das Plasma eine klebrige, nicht fadenziehende Flüssigkeit, wenige Grade über 0° scheidet sich aber aus dem Plasma das Fibrin gallertig aus, dessen Menge beim Menschen etwa 0.2 Proc. des Gesammtblutes beträgt. Wesentlich dieselben Erscheinungen werden beobachtet, wenn man Aderlassblut bei gewöhnlichen Temperaturen gerinnen lässt, nur mit dem Unterschiede, dass die Ausscheidung des Fibrins früher eintritt, bevor sich die specifisch schwereren Blutkörperchen zu Boden gesenkt haben. Das Gerinnsel (Blutkuchen) erscheint in Folge davon gleichmässig roth, indem das ausgeschiedene Fibrin die Blutkörperchen einschliesst. Die auffallende Thatsache, dass das Blut ausserhalb des Gefässsystems gerinnt, während es im lebendigen Körper flüssig bleibt, war von jeher Gegenstand vielfacher Untersuchungen. Brücke[2]) hat nachgewiesen, dass weder der Ausschluss der atmosphärischen Luft, noch die Erhaltung der Bewegung und der Körpertemperatur die Blutgerinnung zu hindern im Stande sind; danach wird angenommen, dass nur in der lebendigen Gefässwand die Ursachen für das Flüssigbleiben des circulirenden Blutes zu suchen sind. Ebenso wenig haben auch die bisherigen Arbeiten von R. W. Richardson[3]), Mantegazza[4]), Alexander Schmidt[5]) u. A. den chemischen Vorgang bei der Blutgerinnung erklären können. Nach den Untersuchungen des letztgenannten Autors finden sich in dem Blutplasma zwei Eiweissstoffe, die von dem Serumveiweiss erschieden sind, die fibrinogene und die fibrinoplastische Substanz, durch deren Vereinigung das Fibrin entsteht. Zum Zustandekommen der Gerinnung soll jedoch noch ein dritter Körper (das Fibrinferment) nothwendig sein, welcher von A. Schmidt ebenfalls aus dem Blutserum durch

---

[1]) Kühne, Lehrb. d. physiol. Chem. Leipzig 1868, **12**, 161.

[2]) E. Brücke, Virchow's Arch. **12**, 81.

[3]) The cause of the coagulation of the blood. London 1851.

[4]) Ricerche sperimentali sull' orgine della fibrina etc. Milano 1871.

[5]) A. Schmidt, Arch. v. Reichert u. Du-Bois-Reymond, 1861 und 1862; Pflüger's Arch. f. 1872, **6**, 413.

Fällung mit Alkohol dargestellt wird und der die beiden Fibringeneratoren zum Zusammentritt zu Fibrin veranlasst. — Das Blut gerinnt um so schneller, je verdünnter es ist. So bei Hydrämie und nach Blutverlusten; auch ist dann das Gerinnsel viel fester und zäher, als das des wasserarmen oder viel morphotische Elemente enthaltenden Blutes. Ein wasserarmes Blut (Cholera), an rothen Blutkörperchen (Plethora) oder farblosen Zellen (Leukämie) reiches Blut giebt lockere, leicht zerdrückbare Gerinnsel. Das Blut gerinnt um so langsamer, je ärmer an Sauerstoff und reicher an Kohlensäure es ist; deshalb gerinnt das arterielle Blut stets früher als das venöse. Die hellere rothe Farbe, die früher eintretende Gerinnung und der Unterschied im Gasgehalte (s. unten) sind die drei wesentlichen Unterscheidungsmerkmale des arteriellen von dem venösen Blute. Der Gehalt des Blutes an Fibrin wird ermittelt entweder nach der Methode von Becquerel und Rodier[1]), oder auch nach der von Hoppe-Seyler. Die erstere wird folgendermaassen ausgeführt: 30 bis 40 g Blut werden in einem hohen Cylinderglase, das zuvor sammt einem zum Quirlen des Blutes dienenden Glasstabe genau gewogen ist, aufgefangen. Man rührt nun mit dem Glasstabe so lange das Blut um, bis sich das Fibrin in faserigen oder klumpigen Massen abgesetzt hat; sodann bedeckt man das Gefäss mit einer Glasplatte, lässt erkalten und wägt, nachdem das Blut die Temperatur der umgebenden Luft angenommen hat, das Cylindergefäss sammt Glasstab und Blut. Durch Abzug des Gefäss- und Glasstabgewichtes wird das Gewicht des zur Faserstoffbestimmung verwendeten Blutes erhalten. Man spannt hierauf über das Becherglas einen reinen Lappen starker, nicht grobporiger Leinwand und bringt Blut sammt abgeschiedenem Faserstoff darauf; das defibrinirte Blut läuft ab, während der Faserstoff auf der Leinwand zurückbleibt. Ist alles Blut abgelaufen, so fasst man die vier Ecken des Leinwandläppchens zusammen, bildet dadurch ein Säckchen, bindet dieses oberhalb des Faserstoffes und mit der Vorsicht, dass nichts von letzterem eingeschnürt wird, mittelst starken, mehrfach herumgewundenen Bindfadens fest zu, legt es in Wasser und knetet es unter demselben so lange, bis das ablaufende Wasser nicht mehr röthlich gefärbt ist. Man öffnet hierauf das Säckchen, breitet den Lappen auf einer reinen Unterlage aus, bringt nun die Hauptmasse des nun weissen oder höchstens schwach röthlich gefärbten Faserstoffes auf ein vorher genau gewogenes Uhrglas und sodann, mittelst einer reinen Pincette und mit Zuhülfenahme einer Lupe, die auf der Leinwand hier und da noch zerstreuten Partikelchen. Faserstoff sammt Uhrglas wird nun im Luftbade bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet und giebt gewogen nach Abzug des Uhrglases das Gewicht des Faserstoffs für die verwendete Menge Blut. Hoppe-Seyler[2]) benutzt, um die beim Defibriniren des Blutes stattfindende Verdunstung zu verhüten, ein mit einer Kautschukkappe versehenes Glasgefäss; auch filtrirt er das Faserstoffgerinnsel nicht auf ein Leinwandläppchen, sondern lässt das Fibrin zu Boden setzen und wäscht durch Decantation. Die Manipulation ist folgende: Zum Auffangen des Blutes dient ein mit der Kautschukkappe geschlossenes Becherglas. Durch einen kleinen Röhrenansatz in der Mitte des Kautschuküberzuges steckt man ein ruderförmiges Fischbeinstäbchen, so dass dessen unteres Ende fast den

[1]) Gorup-Besanez, Zoochemische Analyse. Braunschweig 1871, S. 340.

[2]) Physiol. pathol. chem. Analyse S. 320.

Boden des Glases berührt, wenn die Kautschukkappe übergezogen ist. Der ganze gut getrocknete Apparat wird genau gewogen. Nachdem der Kautschuküberzug entfernt ist, fängt man eine Portion von 30 bis 40 ccm des zu untersuchenden Blutes unmittelbar von der Ader darin auf, zieht die Kautschukkappe über, schlägt etwa 10 Minuten lang und wägt nach dem völligen Erkalten. Nach Abzug des Apparatgewichtes erhält man das Gewicht des zur Untersuchung genommenen Blutes. Hierauf hebt man den Kautschuküberzug ab, füllt das Gefäss fast ganz mit Wasser, rührt stark um und lässt das Fibrin sich absetzen. Giesst darauf die klare Flüssigkeit in ein anderes Becherglas ab und bringt mit einer neuen Portion Wasser, dem einige Tropfen Kochsalzlösung zugesetzt sind, das Fibrin auf ein kleines gewogenes Filter und wäscht mit reinem Wasser so lange aus, bis die ablaufende Flüssigkeit völlig farblos und das Fibrin selbst höchstens hellrosa gefärbt erscheint. Mit einer reinen Pincette gelingt es leicht, Fibrinfasern, die am Fischbeinstäbchen haften, abzunehmen und dem Uebrigen auf dem Filter zuzufügen. Schliesslich wäscht man das Fibrin noch einige Male mit siedendem Alkohol, um eingeschlossene Fette zu lösen und zu entfernen, trocknet dann Filter und Fibrin bei 110° bis 120° im Luftbade und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure. Ueber die Eigenschaften und Zusammensetzung des Fibrins, sowie dessen Bildner siehe den Artikel Eiweissstoffe.

Da das circulirende Blut aus den festen Elementen und der Intercellularflüssigkeit, dem Plasma, besteht, so ist ersichtlich, dass die Untersuchung der einzelnen das Blut zusammensetzenden chemischen Stoffe getrennt in den morphotischen Bestandtheilen und in der Blutflüssigkeit ausgeführt werden müsste. Die meisten der vorhandenen Analysen beziehen sich aber auf das Gesammtblut und es ist auch bei der Schwierigkeit, die Blutkörperchen von der Blutflüssigkeit vollkommen zu trennen, nicht immer möglich, genau zu bestimmen, welche und wie viel von den im Gesammtblute aufgefundenen Substanzen nur einem von diesen beiden Componenten oder beiden gemeinschaftlich angehören. Hoppe-Seyler [1]) hat zuerst ein Verfahren angegeben, um das relative Gewicht der feuchten Blutkörperchen zu dem des Plasmas zu erfahren und welches namentlich für das Pferdeblut anwendbar ist. Aus dem frisch aus der Ader gelassenen und in dem auf — 10° abgekühlten Glascylinder aufgefangenen Pferdeblute senken sich nämlich die Blutkörperchen rasch zu Boden, während die obere Schicht aus dem reinen farblosen Plasma besteht. Es ist dadurch möglich, ungeronnenes Plasma frei von Blutkörperchen zu erhalten. Man bestimmt nunmehr den Fibringehalt in einer gewogenen Menge Blutes und ferner den Fibringehalt in einer gewogenen Menge Plasmas. Da aber das Fibrin ausschliesslich dem Plasma angehört, so lässt sich daraus das Gewicht des in einer gegebenen Menge Blutes enthaltenen Plasmas berechnen. Durch Abzug des Plasmagewichtes von dem Gesammtgewichte des Blutes wird als Rest das Gewicht der feuchten Blutkörperchen erhalten. Nach dieser Methode fand Hoppe-Seyler in 100 Gew.-Thln. Pferdeblut feuchte Blutzellen 32.78, Blutplasma 67.22. Das Blutplasma enthielt: Serum 66.5[illegible] Fibrin 0.68.

[1]) Hoppe-Seyler, Virchow's Arch. **12**, 483.

In Folgendem wird zunächst die Zusammensetzung des Blutserums und dann die der morphotischen Bestandtheile beschrieben.

Blutserum oder Blutwasser ist eine gelbliche, gelbgrüne, beim Kaninchen fast farblose durchsichtige, nach Fettnahrung milchig getrübte Flüssigkeit. Das specif. Gewicht des Blutserums schwankt beim Menschen zwischen 1.027 und 1.029. Die Reaction des Serums ist stets alkalisch und zwar stärker als die des Plasmas. Beim Kochen gerinnt es wegen seines Albumingehaltes; durch Weingeist, Mineralsäuren oder durch Metallsalze wird das Albumin ebenfalls gefällt, dessen Menge 7 bis 10 Proc. beträgt. 100 Thle. Pferdeblutserum enthalten nach Hoppe-Seyler: Albumin 7.82, Fette 0.12, Alkoholextract 0.14, Wasserextract 0.27, lösliche Salze 0.64, unlösliche Salze 0.18; also 9.17 feste Bestandtheile und 90.82 Wasser.

Das Serumfett besteht aus den Glyceriden, der Stearin-, Palmitin- und Oelsäure. Zum geringen Theile kommen jedoch diese Säuren als Alkaliseifen vor. Ein ebenfalls constanter Bestandtheil des Serums ist Cholesterin. Wird aus dem Serum das Eiweiss durch Coagulation gefällt, so hinterbleibt nach dem Verdunsten der abfiltrirten Flüssigkeit neben den Kochsalzkrystallen in geringer Menge ein organischer Rückstand, etwa 0.4 Proc. des Serums betragend, aus dem in wechselnder Menge bei den verschiedenen Thierspecies folgende Substanzen dargestellt wurden:

1. Harnstoff. Im Mittel für das normale Menschenblut zu 0.016 Proc. nach Picard[1]). Poiseuille und Gobley[2]) fanden im Mittel für das arterielle Blut sowohl herbivorer als carnivorer Thiere 0.02 Proc. Harnstoff des Gesammtblutes.

2. Harnsäure hat Garrot aus dem Blute Arthritischer dargestellt.

3. Kreatin haben Verdeil und Marcet,

4. Hippursäure Verdeil und Dollfuss im Ochsenblute gefunden; ebenfalls im Ochsenblutserum soll nach Carter[3]) Indican vorkommen.

5. Traubenzucker, in geringer Quantität constant im Serum aller Gefässe und in grösseren Mengen beim *Diabetes mellitus*.

6. Milchsäure, namentlich bei Krankheiten.

7. Gallenfarbstoff und Gallensäuren bei verschiedenen Leberaffectionen.

8. Leucin und Tyrosin bei acuter Leberatrophie. Ueber die unorganischen Bestandtheile des Serums, deren Menge etwa 0.9 Proc. des Serums beträgt, siehe Blutasche.

Morphotische Bestandtheile des Blutes. a) Rothe Blutkörperchen. Die rothen Blutkörperchen sind dünne, nach der Ansicht der meisten Histiologen membranlose, beim Menschen biconcave Scheiben und kommen bei den Wirbelthieren in zwei verschiedenen Formen vor, als kreisrunde bei den Säugern und als elliptische bei den Vögeln, Amphibien und Fischen, wenn es auch Ausnahmen von diesem allgemeinen Gesetze giebt. So haben unter den Säugern die Gattungen Camelus und Auchenia elliptische Blutscheiben und umgekehrt unter den Fischen einige Cyclostomen, wie Petromyzon und Myxine kreisförmige. Ausser durch die

---

[1]) Picard, De la présence de l'urée dans le sang et de la diffusion dans l'organisme. Thèse. Strasbourg 1856.

[2]) Poiseuille et Gobley, Compt. rend. 1859, **2**, 164.

[3]) Carter, Hänle's und Meissner's Jahresber. 1859, S. 251.

Form unterscheiden sich noch die Blutkörperchen der Vögel und Amphibien von denen der Säuger durch den nahezu in der Mitte der Blutscheibe befindlichen Fleck — Kern der Blutkörperchen. Derselbe ist bald mehr rund wie bei den Vögeln oder elliptisch wie bei den Amphibien. Die kreisscheibenförmigen Körperchen der Säuger haben einen solchen Kern nicht. Die Grösse der rothen Blutkörperchen wurde von Welcker[1]) nach einer von ihm ersonnenen Methode folgendermaassen bestimmt: Durchmesser des grössten Querschnittes der Menschenblutscheibe im Mittel 0.00774, im Minimum 0.00640, im Maximum 0.00860, die grösste Dicke der Scheibe zu 0.00190 mm. Das Volumen des menschlichen Blutkörperchens bestimmte Welcker zu 0.000.000.0732 cbmm und dessen Oberfläche zu 0.000.128 qmm. Die in 1 cbmm Blut enthaltenen Blutkörperchen (5 000 000) besitzen danach eine Oberfläche von 640 qmm. Wird die Gesammtblutmenge des Menschen zu 4400 ccm angenommen, so haben die darin enthaltenen Blutkörperchen eine Oberfläche von 2816 qm. Für die in der Secunde durch die Lunge strömende Luftmenge (durchschnittlich 176 ccm) ergiebt sich die Sauerstoff absorbirende Oberfläche der Blutkörper zu 81 qm. Die kleinsten Blutkörperchen hat der *Moschus javanicus*. Zu den grössten gehören die der Perenibranchen, des *Proteus anguineus* und die noch grösseren von *Siren lacertina* (grosser Durchmesser $^1/_{16}$ mm, kleiner Durchmesser $^1/_{30}$ mm). Je grösser die Blutkörperchen sind, um so geringer ist ihre Zahl im Blute. So verhält sich das Volumen des einzelnen Blutkörperchens von:

| Mensch | Taube | Eidechse | Frosch | Triton | Proteus |
|---|---|---|---|---|---|
| 1.0 | 1.7 | 3.2 | 9.2 | 17.7 | 127.7 |

während das Gesammtvolumen der Blutkörperchen in gleichen Blutmengen sich verhält wie:

| Mensch | Taube | Eidechse | Frosch | Triton | Proteus |
|---|---|---|---|---|---|
| 1.0 | 0.7 | 0.8 | 0.7 | 0.4 | 0.9 |

Das Volumen der Blutkörperchen in der gleichen Blutmenge nimmt von den Säugethieren bis zu den Fischen ab. So enthalten 100 Vol. des Blutes bei den Säugethieren im Mittel 32, bei den Vögeln 28, bei den Reptilien 27, bei den Amphibien 25, bei den Fischen 7 Vol. Blutkörperchen.

Das specif. Gewicht der feuchten Blutkörperchen findet Welcker gleich 1.105.

b) Die farblosen Blutkörperchen. In frisch gelassenem Blute erscheinen dieselben als rundliche, aus mehr oder minder körnigem Protoplasma zusammengesetzte Gebilde. Eine Membran an den weissen Blutzellen ist nicht nachgewiesen worden. Sie enthalten 1 bis 5 Kerne. Auf die Temperatur von 35° bis 40° erwärmt, gerathen sie in lebhafte, den kriechenden Bewegungen einer Amöbe ähnliche Bewegungen. Bei einer Steigerung der Temperatur über 40° hören die Bewegungen auf und die Zellen erhärten. In normalem Blute ist die Zahl der weissen Blutzellen viel geringer als wie die der rothen und unterliegt grossen Schwankungen. Im Mittel kommt nach Welcker auf 335 rothe Körperchen ein weisses. Hirt fand früh Morgens

[1]) Welcker, Zeitschr. f. rationelle Medicin **20**, 259.

im nüchternen Zustande ein weisses Körperchen auf 716 rothe, eine halbe Stunde nach dem Frühstück eins auf 347 rothe, 2 bis 3 Stunden später 1 : 1514, 10 Minuten nach dem Mittagessen 1 : 1592, eine halbe Stunde nach dem Mittagesssen 1 : 429, eine halbe Stunde nach dem Abendessen 1 : 544 und 2 bis 3 Stunden nach dem Abendessen 1 : 1227. In den *Vena lienalis* fand Hirt das Verhältniss 1 : 60, in der *Arteria lienalis* 1 : 2260, in der *Vena hepatica* 1 : 170, in der *Vena portae* 1 : 740. Im leukämischen Blute ist die Zahl der weissen Blutzellen so bedeutend gesteigert, dass sie manchmal ein Viertel der gesammten morphotischen Elemente beträgt.

c) Andere morphotische Bestandtheile des Blutes. Ausser den weissen Blutkörperchen finden sich noch constant im menschlichen Blute unregelmässige Klümpchen farbloser Kügelchen, die sich wie zerfallene Zellsubstanz ausnehmen. Nach L. Riess [1]), der ähnliche Kügelchen bei verschiedenen Krankheiten beobachtete, sollen dieses Zerfallsproducte der weissen Blutkörperchen sein. Auch niedrige pflanzliche Organismen (Mikrococcen) sollen im Blute, namentlich bei Infectionskrankheiten, vorkommen. Mit Sicherheit nachgewiesen sind indessen nur die zuerst von Obermeyer [2]) im Blute von *Typhus recurrens*-Kranken beobachteten fadenförmigen Gebilde.

Die Spaltungsproducte der rothen Blutkörperchen; Blutstroma und Blutfarbstoff. Kurze Zeit nach Anfertigung eines frischen mikroskopischen Blutpräparates von Menschen beobachtet man, dass der Rand derselben gezackt und mit Höckern besetzt ist. Diese Form wird als Maulbeerform (sternförmige Verschrumpfung) bezeichnet. Wird Blut von einem Säugethiere in Form verschieden gestalteter Leiter in den Schliessungsbogen der Leydener Flasche aufgenommen, so bekommen die rothen Blutkörperchen in Folge der Entladungsschläge zuerst am Rande einige Kerben (Rosettenform nach Rollett). Diese geht weiterhin über in die Maulbeerform, welche man mittelst des Entladungsschlages durch Belieben hervorrufen kann. Es folgt ein weiteres Stadium, in welchem die Zacken sich zuspitzen, so dass das Körperchen mehr einem Stechapfel gleicht. Endlich werden alle Zacken eingezogen, es entsteht eine gefärbte Kugel, welche dann verblasst und einen glatten farblosen Rückstand hinterlässt. Es ist nunmehr aus dem Blutkörperchen ein rother Farbstoff (das Hämoglobin) in die Lösung übergegangen mit Hinterlassung eines farblosen Rückstandes, des Stroma von Rollett [3]), welcher noch die Form des ursprünglichen Blutkörperchens zeigt. Diese Spaltung der Blutkörperchen in die Stromata und den Farbstoff wird auch durch Schütteln mit Aether, gallensauren Alkalien, Chloroform oder Alkohol hervorgerufen. Am zweckmässigsten jedoch ist das Gefrierenlassen des Blutes. Defibrinirtes Blut wird in einen Platintiegel, der in einer Kältemischung von Eis und Kochsalz sich befindet, tropfenweise eingetragen und nicht eher neues Blut hinzugefügt, als bis vollständige Erstarrung eingetreten ist. Lässt man dann das Blut schnell wieder aufthauen und wieder gefrieren, so nimmt das Blut nach zwei- bis dreimaliger Wiederholung dieser Operation eine tiefrothe

[1]) L. Riess, Zur patholog. Anatomie des Blutes; Arch. von Reichert u. Du-Bois-Reymond 1872, S. 237.

[2]) Obermeyer, Medicin. Centr. f. 1873, S. 145.

[3]) Alexander Rollett in Stricker's Handb. der Lehre von den Geweben, S. 270.

Lackfarbe an und die mikroskopische Untersuchung zeigt, dass der Blutfarbstoff mit Hinterlassung des farblosen Stromas in die Lösung übergegangen ist. Die so gewonnenen Stromata zeigen innerhalb des gefärbten Serums noch dieselbe Form wie die unveränderten Körperchen, dieselbe sehr vollkommene Elasticität und dasselbe Quellungs- und Schrumpfungsvermögen, je nach der Verdünnung oder der Concentration des umgebenden Mediums. Durch öfters wiederholtes Gefrieren werden die Stromata in immer kleinere Stückchen zertrümmert, bis sie endlich aus dem Gesichtsfelde völlig verschwinden. Ueber die weiteren Eigenschaften der Stromata, sowie über deren Verbindungsweise mit dem Hämoglobin ist bis jetzt noch nichts mit Sicherheit ermittelt worden. Ausser dem Hämoglobin enthalten die rothen Blutkörperchen noch Eiweiss, Cholesterin und Lecithin. Hoppe-Seyler und Jüdell fanden in 100 Thln. der trockenen organischen Substanz der Blutkörperchen:

| | Menschenblut | | Hundeblut | Gänseblut | Igelblut | Coluber-natrixblut |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1. | 2. | | | | |
| Hämoglobin . . | 86.79 | 94.30 | 86.50 | 62.65 | 92.25 | 46.70 |
| Eiweissstoffe . . | 12.24 | 5.10 | 12.55 | 36.41 | 7.01 | 52.45 |
| Lecithin . . . . | 0.72 | 0.35 | 0.59 | 0.46 | } 0.74 | } 0.85 |
| Cholesterin . . . | 0.25 | 0.25 | 0.36 | 0.48 | | |
| | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |

Das Lecithin des Blutes scheint nur in den Blutkörperchen enthalten zu sein.

Blutfarbstoffe. Hämoglobin, Hämatokrystallin. Zuerst von C. B. Reichert 1847 in krystallisirter Form beobachtet, später von Felix Kunde, Leydig, Otto Funke[1]) und zuletzt von W. Preyer[2]) untersucht. Die verschiedenen Darstellungsmethoden des krystallisirten Blutfarbstoffes sind in der Abhandlung von W. Preyer zusammengestellt. Am zweckmässigsten ist folgendes von Rollet angegebene Verfahren: Frisches und defibrinirtes Blut wird langsam in einen in eine Kältemischung gestellten Platintiegel eingetragen. Das Blut gefriert zu einem rothen Eisklumpen. Nach etwa einer halben Stunde lässt man es langsam aufthauen, giesst den Tiegelinhalt in dünne Bechergläser, so dass der Boden etwa 15 mm hoch mit dem lackfarbenen Blute bedeckt ist und stellt ihn an einem kühlen Orte zur Krystallisation hin. Nach ungefähr einer Stunde hat sich ein Sediment von Krystallen abgesetzt, die rasch filtrirt und zwischen Fliesspapier von der Lauge abgepresst werden. Am raschesten krystallisirt das Blut von Meerschweinchen, dann das von Eichhörnchen, Katzen und von Hunden; erst nach längerer Zeit das Blut von Kaninchen und Menschen. Die Hämoglobine der bis jetzt untersuchten Blutarten krystallisiren im rhombischen System, nur das des Eichhörnchens krystallisirt in sechsseitigen Tafeln, welche dem hexagonalen System angehören. Das Hämoglobin ist meistens in Wasser leicht löslich; jedoch zeigen sich bei verschiedenen Thier-

[1]) Otto Funke, Zeitschr. f. rationelle Medicin 1851, S. 185.
[2]) W. Preyer, Die Blutkrystalle. Jena 1871.

species hierin Unterschiede. So ist das Meerschweinchen- und Eichhörnchenblut und das des Raben in Wasser sehr schwer löslich. Die Farbe der Krystalle ist im Allgemeinen die des Blutes, sie sind alle doppelbrechend und pleochromatisch. Die durch Auspressen möglichst von der Mutterlauge befreiten Blutkrystalle lassen sich unter 0° mit der Luftpumpe über Schwefelsäure so weit trocknen, dass sie nur noch 3 bis 4 Proc. Wasser bei 110 bis 120° abgeben (Hoppe-Seyler). Sie stellen dann ein hell ziegelrothes Pulver dar, das noch alle Eigenschaften des unzersetzten Hämoglobins zeigt. Nach Preyer verlieren die bei 0° an der Luft getrockneten Krystalle in luftverdünntem Raume über Schwefelsäure 14.12 Proc. Wasser. Bei 100° verloren sie ferner 1.44 Proc., im Ganzen 15.56 Proc. Wasser. Die so getrockneten Krystalle sind stark hygroskopisch. Wenige Grade über 0° zersetzt sich übrigens auch das getrocknete Hämoglobin, die Krystalle werden dunkel gefärbt und sind nicht mehr vollständig in Wasser löslich. Auf Platinblech erhitzt, verbrennen sie unter Aufblähung mit leuchtender Flamme und hinterlassen, falls sie rein waren, einen Rückstand von reinem Eisenoxyd. Hoppe-Seyler und Carl Schmidt erhielten bei der Analyse des einige Stunden bei 100° getrockneten Hundehämoglobins folgende Zahlen:

| | C. Schmidt im Mittel | Hoppe-Seyler im Mittel |
|---|---|---|
| Kohlenstoff . . | 54.15 | 53.85 |
| Wasserstoff . . | 7.18 | 7.32 |
| Stickstoff . . | 16.33 | 16.17 |
| Eisen . . . . | 0.43 | 0.43 |
| Schwefel . . . | 0.67 | 0.39 |
| Sauerstoff . . | 21.24 | 21.84 |

Nahezu dieselbe procentische Zusammensetzung hat auch das Hämoglobin anderer Thierarten [1]). Charakteristisch für das Hämoglobin ist sein Verhalten gegen das Lichtspectrum. Wässerige $^1/_{1000}$ Hämoglobinlösungen, in einer etwa 1 cm dicken Schicht, zeigen, wenn man sie zwischen den Spalt eines Spectralapparates und die Sonne oder eine Lampenflamme bringt, im grünen Theile des Spectrums zwischen den Fraunhofer'schen Linien *D* und *E* zwei zuerst von Hoppe-Seyler 1862 beobachtete Absorptionsstreifen [2]). Diese Streifen sind noch deutlich zu erkennen, wenn 1 g Hämoglobin in 10 000 ccm Wasser gelöst in 1 cm dicker Schicht vom Sonnenlicht durchstrahlt wird. Zwei Jahre später machte Stokes [3]) die Beobachtung, dass Hämoglobinlösungen, mit reducirenden Agentien (Schwefel-Ammonium, ammonikalische Lösungen von Weinsäure oder weinsaurem Zinnoxydul) behandelt, diese beiden Absorptionsstreifen verlieren und statt deren ein breiter schlecht begrenzter Streifen zwischen *D* und *E* auftritt. Es ist das der Absorptionsstreifen des reducirten (sauerstofffreien) Hämoglobins. Durch Schütteln mit Luft kann das

[1]) W. Preyer, Die Blutkrystalle, Jena 1871, S. 66.
[2]) Arch. f. pathol. Anatomie u. Physiologie 1862, **23**, 446 bis 449.
[3]) Phil. Mag. 1864, **28**, 391 bis 400.

reducirte Hämoglobin wieder in das sauerstoffhaltige (Oxyhämoglobin) umgewandelt werden. Durch Schütteln der Hämoglobinlösungen mit Kohlenoxyd- oder Stickoxydgas werden das Kohlenoxyd- respective Stickoxydhämoglobin erhalten, welche nicht mehr in Oxyhämoglobin überführbar sind.

Der Gehalt des Blutes an Hämoglobin wird ermittelt entweder aus dem Eisengehalte des Blutes oder auch auf spectralanalytischem Wege. Die erste von Hoppe-Seyler angegebene Methode beruht auf dem Principe, dass das sämmtliche im Blut enthaltene Eisen dem Hämoglobin angehört. Da nun das krystallisirte, bei 100° getrocknete Hämoglobin aus Menschenblut 0.42 Proc. Eisen enthält, so ist, wenn $m$ das gefundene Eisen in Procenten bedeutet, der Procentgehalt des Blutes an Hämoglobin gleich $\frac{100\,m}{0.42}$. Es wird zu dem Zweck in einer abgewogenen Blutmenge (mindestens 100 g) das Eisen durch Veraschen und Titriren mit Kaliumpermanganat bestimmt. Die zweite von W. Preyer [1]) angegebene Bestimmungsmethode stützt sich darauf, dass concentrirte Hämoglobinlösungen in einer Schicht von gewisser Dicke auch bei starker Beleuchtung für alle Strahlen, mit Ausnahme der rothen, undurchgänglich sind, während bei einer gewissen Verdünnung der Lösung in derselben Schicht neben Roth und Orange namentlich ein Theil des Grüns durchgelassen wird. Verdünnt man daher eine abgemessene Blutmenge vor dem Spalte des Spectralapparates so lange mit Wasser, bis im Spectrum das Grün auftritt, so kann man, wenn ein für alle Mal der procentische Gehalt einer Hämoglobinlösung, die gerade Grün für eine constante Lichtquelle und denselben Apparat durchlässt, bestimmt ist, den Procentgehalt des Blutes an Hämoglobin an der Gleichung $x = R\left(\frac{v+b}{b}\right)$ berechnen, worin

- $R$ den constanten procentischen Gehalt einer Hämoglobinlösung, welche unter gleichen Verhältnissen Grün durchlässt;
- $v$ das bis zu dem Eintritte des Grün dem Blute zugesetzte Wasservolumen in Cubikcentimetern;
- $b$ das abgemessene Blutvolumen in Cubikcentimetern, und
- $x$ den Procentgehalt des Blutes an Hämoglobin bedeutet.

Den Eisen- und daraus berechneten Hämoglobingehalt des Blutes, wie er namentlich von Becquerel und Rodier, Pelouze und Anderen in normalen und pathologischen Zuständen bestimmt wurde, hat Preyer zusammengestellt [2]). Es enthalten danach 100 Thle.: Menschenblut 12.2, Ochsenblut 12.3, Schweineblut 13.2, Entenblut 8.1 Hämoglobin.

Im Cholerablute fand Carl Schmidt [3]) 15 bis 20 Proc. Hämoglobin, welcher hohe Gehalt jedenfalls die Folge der grossen Wasserverluste bei den Cholerakranken und der consecutiven Wasserarmuth des Blutes ist.

Die wässerigen Lösungen des Hämoglobins werden duch Essigsäure in ein

---

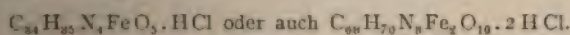
[1]) W. Preyer, Ann. Chem. Pharm. **140**, 187.

[2]) W. Preyer, Die Blutkrystalle, S. 117.

[3]) C. Schmidt, Charakteristik der epidemischen Cholera. Leipzig und Mitau 1850.

farbiges Zersetzungsproduct, das **Hämatin**, und in Acidalbumin gespalten; ähnlich wirken auch die Alkalien, nur dass sich hier Alkalialbuminat bildet. Das durch anhaltenden Wasserstoff- oder Kohlensäurestrom von locker gebundenem Sauerstoff befreite Hämoglobin liefert beim Vermischen unter völligem Luftabschluss mit Alkalien oder schwefelsäurehaltigem Alkohol nicht Hämatin, sondern einen purpurrothen Farbstoff, von Hoppe-Seyler[1]) **Hämochromogen** genannt, der an der Luft schnell Sauerstoff aufnimmt und in Hämatin übergeht. Bei der Zersetzung des Hämoglobins in saurer oder alkalischer oder auch rein wässeriger Lösung wurde neben den beiden Spaltungsproducten des Hämoglobins (des Albumins und des Hämatins) noch das Auftreten von flüchtigen Säuren: Ameisensäure, Buttersäure, in sehr geringer Menge beobachtet; wahrscheinlich nur secundäre Zersetzungsproducte oder Verunreinigungen.

**Hämatin.** Das gefärbte Spaltungsproduct des Hämoglobins ist das Hämatin, dessen krystallisirende salzsaure Verbindung zuerst Teichmann[2]) darstellen lehrte. Die Darstellung dieser Krystalle gelingt leicht schon aus einem einzigen Tropfen getrockneten Blutes, welcher Umstand namentlich in forensischer Beziehung von hohem Werthe ist. Man verreibt zu dem Zwecke den blutfarbstoffhaltigen Rückstand mit einer Spur Kochsalz zu feinem Pulver, breitet es trocken auf einem mikroskopischen Objectträger aus, lässt einen Tropfen Eisessig hinzufliessen und erwärmt gelinde. Beim freiwilligen Verdunsten des erkaltenden Präparates findet sich das Gesichtsfeld mehr oder weniger erfüllt von rothbraun gefärbtem salzsaurem Hämatin, die zwischen den farblosen Krystallen von Kochsalz, essigsaurem Natrium und Albuminschollen liegen. Zur Darstellung grösserer Quantitäten ist folgendes Verfahren am zweckmässigsten: Ein Liter defibrinirten Blutes wird mit 9 Litern kalt gesättigter Kochsalzlösung gut gemischt und hierauf an einem kühlen Orte der Ruhe überlassen. Nach Verlauf von 24 Stunden haben sich die Blutkörperchen als ein dicker Schlamm zu Boden gesenkt. Man giesst nun die darüber stehende schwach röthlich gefärbte Flüssigkeit ab und schüttelt den dicklichen Schlamm von Blutkörperchen so lange mit Aether, bis die Flüssigkeit lackfarben geworden und ein Tropfen derselben unter dem Mikroskope nur noch wenige unversehrte Blutkörperchen zeigt. Man giesst den Aether ab und fällt den Rückstand mit Alkohol. Der so erhaltene Niederschlag wird zwischen Fliesspapier getrocknet und mit dem 4- bis 5 fachen Gewicht 90 procentigen Alkohols, dem einige Cubikcentimeter concentrirte Schwefelsäure zugesetzt worden, kurze Zeit auf dem Wasserbade gekocht. Das siedend heisse Filtrat giebt schon manchmal beim Erkalten wohl ausgebildete rhombische, flohbraune Tafeln des salzsauren Hämatins. Nach dem Abdestilliren des Alkohols bis etwa auf ein Dritttheil scheidet sich der grösste Theil des Hämatins krystallinisch aus. Diese Krystalle haben nach den Analysen Hoppe-Seyler's folgende Zusammensetzung:

$$C_{34}H_{35}N_4FeO_5 . HCl \text{ oder auch } C_{68}H_{70}N_8Fe_2O_{10} . 2\,HCl.$$

In den nach dem obigen Darstellungsverfahren erhaltenen Krystallen habe ich

[1]) Hoppe-Seyler, Ber. 1870, S. 229.

[2]) Teichmann, Zeitschr. f. rat. Med. von Pfeuffer u. Henle **3**, 357; **8**, 141.

den Eisengehalt gleich 8.27 und den Chlorgehalt gleich 5.08 gefunden, was ebenfalls mit den Analysen von Hoppe-Seyler übereinstimmt. Das salzsaure Hämatin ist unlöslich in kaltem und warmem Wasser, nur sehr wenig in siedendem Alkohol und Eisessig, unlöslich in Aether und Chloroform; allein bei Gegenwart von Fetten wird es in beträchtlicher Menge davon gelöst. Von Alkalien wird es mit Leichtigkeit gelöst, es bilden sich Chloralkalien und freies Hämatin, welches letztere durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure zu der alkalischen Lösung in amorphen Flocken gefällt wird. Das Hämatin im trockenen Zustande ist ein amorphes, röthlich braunes Pulver, unlöslich in Wasser, Alkohol und Aether, leicht löslich in freien und kohlensauren Alkalien, wenig löslich in siedendem schwefelsäurehaltigem Alkohol. Es kann bis auf 180° ohne Zersetzung trocken erhitzt werden. Bei höheren Temperaturen schwärzt es sich, entwickelt Blausäure und hinterlässt beim Glühen einen Rückstand von reinem Eisenoxyd. Leyer und Köller[1]) erhielten durch Kochen von Hämatin mit verdünnter Schwefelsäure reichliche Mengen von Tyrosin und Leucin. Beim Schmelzen mit Kali wird es nur sehr schwierig zersetzt; bei der trockenen Destillation liefert es Pyrrol. Das reine Hämatin ist nach Hoppe = $C_{68}H_{70}N_8Fe_2N_{10}$.

Concentrirte Schwefelsäure entzieht dem Hämatin das Eisen. Nach Wasserzusatz werden braune amorphe Niederschläge erhalten, die eisenfrei sind. Wasserstoffentwickelung findet bei der Einwirkung von Schwefelsäure auf das Hämatin nicht statt. Durch Einwirkung von Zinkstaub in alkalischer Lösung, Natriumamalgam oder Zinn- und Salzsäure wurden verschiedene Reductionsproducte des Hämatins gewonnen, deren Reindarstellung aber kaum gelang [Hoppe-Seyler[2])]. Ausser dem Hämatin ist bis jetzt nur noch ein einziges genauer charakterisirtes farbiges Spaltungsproduct des Hämoglobins bekannt, das zuerst von Virchow[3]) im extravasirten Blute beobachtete

Hämatoidin. Die Entstehung des Hämatoidins aus dem Hämoglobin ist bis jetzt nur innerhalb des thierischen Organismus constatirt worden. Ueberall da, wo Blut im lebendigen Körper aus den Gefässen in das umgebende Gewebe austritt, wie z. B. in den *Corpora lutea* der Ovarien, in den apoplektischen Gehirnnarben, in den hämorrhagischen Milzinfarcten, in Cysten, im Blute todfauler Früchte u. s. w., finden sich regelmässig mikroskopische Krystalle des rhombischen Systems von Hämatoidin, deren Quantität aber eben bis jetzt nur für mikrochemische Reactionen ausreichte. Die Umwandlung des Hämoglobins in das Hämatoidin im lebenden Organismus erfolgt übrigens schon in kurzer Zeit: bringt man Tauben ihr eigenes geronnenes Blut unter die Haut, so findet man schon am zweiten Tage innerhalb des Blutgerinnsels das Hämatoidin in mikroskopischen Rhomben oder Nadeln auskrystallisirt [Th. Langhans[4])]. Ein einziges Mal fand Robin[5]) in einer Lebercyste eine bedeutende Menge (3 g) Hämatoidin ausgeschieden. Es bildete harte zerbrechliche Nadeln und schief rhombische Prismen von 118° und 62°, die eine

[1]) Ann. Chem. Pharm. **83**, 337.

[2]) Hoppe-Seyler, Dessen med. chem. Untersuch. 1871, **4**, 523 bis 550.

[3]) Virchow, Arch. f. path. Anat. u. Physiol. 1847, **1**, 445.

[4]) Th. Langhans, Virchow's Arch. f. path. Anat. u. Physiol. **49**, 82.

[5]) Robin, Compt. rend. **41**, 506.

lebhafte orangerothe Farbe besassen. Die Krystalle waren unlöslich in Wasser, Alkohol und Aether, flüchtigen Oelen und in Essigsäure; leicht löslich mit rother Farbe in Ammoniak, doch wurde die Lösung bald gelb, zuletzt braun. Kaustisches Kali macht die Krystalle aufschwellen und löst sie allmählich, durch Zusatz von Essigsäure entsteht hierauf keine Fällung. Concentrirte Schwefelsäure färbt die Krystalle zunächst braunroth, welches in Grün, Blau, Rosa, zuletzt in schmutziges Gelb übergeht, wobei allmählich Lösung erfolgt. In Salpetersäure löst es sich mit dunkelrother, in Salzsäure in geringer Menge mit gelber Färbung. Ob das Hämatoidin mit dem Bilirubin identisch ist, lässt sich auf Grund dieser Eigenschaften und der Analyse des Hämatoidins von Robin und Riche nicht entscheiden. Sie fanden darin 65.05 Kohlenstoff, 6.37 Wasserstoff, 10.51 Stickstoff; daneben 0.2 Proc. Alkalisalze und Eisen. Die Formel des Bilirubins: $C_{16} H_{18} N_2 O_3$, verlangt aber 67.1 Kohlenstoff, 6.3 Wasserstoff, 9.8 Stickstoff und 16.8 Sauerstoff.

Der von Simon, sowie von Sanson[1]) als Blutbraun (Hämophäin) beschriebene Blutfarbstoff und auch das Hämocyanin sind jedenfalls unreines Hämatin oder dessen nicht näher untersuchte Zersetzungsproducte gewesen.

Die Gase des Blutes. Ausser den älteren Arbeiten von G. Magnus[2]) haben sich mit der Untersuchung der Blutgase namentlich L. Meyer[3]), E. Fernet[4]), S. Setschenow[5]), A. Schöffer[6]) und E. Pflüger[7]) beschäftigt. Das Blut enthält Sauerstoff, Kohlensäure und Stickstoff und zwar theils absorbirt, theils chemisch gebunden. Durch Auspumpen im Vacuum lässt sich das Blut nahezu völlig entgasen (Setschenow, Pflüger). Es nimmt dann eine dunkelschwarze Farbe an, welche aber beim Schütteln mit Luft nicht mehr die arterielle rothe Farbe wieder erhält. 100 Vol. arteriellen Hundeblutes enthalten bei 0° und 1 m Quecksilberdruck

| Nach Pflüger: | |
|---|---|
| Gesammtgase | = 39.5 |
| $CO_2$ | = 29.0 |
| O | = 7.9 |
| N | = 2·6 |

| Nach Setschenow: | O | N | $CO_2$ frei | $CO_2$ geb. |
|---|---|---|---|---|
| 1. | 15.05 | 1.192 | 30.66 | 2.54 |
| 2. | 16.41 | 1.20 | 28.27 | 2.32 |

Den Unterschied im Gasgehalte des arteriellen und venösen Blutes zeigt folgende von Schöffer erhaltene Tabelle. Es wurde bei einem und demselben Hunde möglichst gleichzeitig venöses Blut aus dem rechten Herzen und arterielles Blut über Quecksilber aufgefangen und auf die Gase untersucht. Die Zahlen beziehen sich auf 100 Vol. Flüssigkeit und die Gasvolumina sind auf 0° und 1 m H. G. Druck reducirt:

---

[1]) J. pharm. 1835, p. 420.

[2]) G. Magnus, Pogg. Ann. **36**, 685; **40**, 583; **56**, 177.

[3]) L. Meyer, Zeitschr. f. ration. Med. **8**, 256.

[4]) E. Fernet, Du rôle des principaux éléments du sang dans l'absorption ou le dégagement des gaz de la respiration. Thèse. Paris 1858; Ann. des scienc. rat. [4] **8**, 128.

[5]) J. Setschenow, Wien. Akad. Ber. 1859, S. 293.

[6]) A. Schöffer, Wien. Akad. Ber. **41**, 519.

[7]) E. Pflüger, Ueber die Kohlensäure des Blutes. Bonn 1864.

| Hund | Auspumpbare Gase | N | O | Auspumpbare $CO_2$ | Gebundene $CO_2$ | Gesammte $CO_2$ | Blutart |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 46.42 | 4.18 | 11.39 | 30.08 | 1.90 | 32.78 | arteriell |
| " | 37.01 | 3.05 | 4.15 | 29.32 | 5.49 | 35.31 | venös |
| 2. | — | — | — | 29.45 | 2.92 | 32.87 | arteriell |
| " | — | — | — | 34.26 | 3.81 | 38.07 | venös |
| 3. | 50.60 | 1.25 | 17.70 | 31.65 | Spuren | 31.65 | arteriell |
| " | 43.25 | 1.00 | 9.20 | 33.05 | 3.05 | 36.10 | venös |
| 4. | 42.91 | 1.23 | 15.24 | 26.44 | Spuren | 26.44 | arteriell |
| " | 41.61 | 1.17 | 12.61 | 27.83 | 1.67 | 29.50 | venös |
| 5. | 41.44 | 1.66 | 11.76 | 28.02 | 1.26 | 29.28 | arteriell |
| " | 42.64 | 1.25 | 8.85 | 32.53 | 3.06 | 35.95 | venös |
| 6. | 45.55 | 1.80 | 16.95 | 26.80 | 0.67 | 27.47 | arteriell |
| " | 41.87 | 1.15 | 10.46 | 30.26 | 1.57 | 31.83 | venös |

Danach enthält das arterielle Blut im Mittel auf 100 Vol. 5.5 ccm Sauerstoff mehr und 4.6 ccm Kohlensäure weniger als das venöse Blut. Die Menge der gebundenen Kohlensäure im venösen Blute ist constant grösser als wie die im arteriellen. Die Menge des absorbirbaren Sauerstoffs ist für das Blut verschiedener Gefässbezirke sehr wechselnd. Constant nimmt das Blut der Pfortader relativ die grössten Mengen Sauerstoff auf. So liess Cl. Bernard[1]) gleiche Volumina Hundeblut aus verschiedenen Gefässprovinzen Sauerstoff absorbiren und fand folgende Zahlen:

100 Vol. Blut nahmen auf

| | während der Verdauung: | im nüchternen Zustande: |
|---|---|---|
| Blut der Pfortader . . . . | 19.3 Vol.-Proc. | 23 Vol.-Proc. |
| " des rechten Herzens . | 17.6 " | 21 " |
| " der Vena jugularis . | 14.0 " | 16 " |
| " des linken Herzens . | 10.2 " | 10 " |

Im Blute erstickter Thiere verschwindet der Sauerstoff nahezu vollständig, wie dies aus folgender von Setschenow[2]) für das Hundeblut erhaltenen Tabelle ersichtlich ist:

| Versuch | O | N | $CO_2$ frei | $CO_2$ geb. | $CO_2$ total |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 1.161 | 4.728 | 33.168 | 4.366 | 37.534 |
| 2. | Spuren | 1.399 | 28.012 | 3.286 | 31.298 |
| 3. | Spuren | 1.184 | 38.152 | 4.011 | 42.163 |
| 4. | Spuren | 1.955 | 38.857 | 1.791 | 40.648 |

In Uebereinstimmung hiermit fand Gwosdew, dass das unter völligem L[illegible]

[1]) Cl. Bernard, Henle's u. Meissner's Jahresber. f. 1857, S. 301.
[2]) Henle's u. Meissner's Jahresber. f. 1859, S. 307.

abschluss gewonnene und untersuchte venöse Blut erstickter Thiere nur den Absorptionsstreifen des reducirten Hämoglobins zeigte; ebenso verhält sich nach Kotelewski[1]) das in gleicher Weise zur Prüfung gebrachte Blut von Kaninchen, die durch Nackenstich oder elektrischen Schlag rasch getödtet wurden. Es ist danach wahrscheinlich, dass die Gewebe den Sauerstoff so schnell verzehren, dass schon in wenigen Augenblicken nach dem Aufhören der Athmung das Venenblut kein Oxyhämoglobin mehr enthält. Danach kann das spectroskopische Verhalten des Blutes nicht zur Diagnose der Asphyxie benutzt werden. Ueber die Art der Bindung der Kohlensäure im Blute ist bis jetzt noch nichts Sicheres ermittelt worden. Während die meisten Experimentatoren sich zu der zuerst von Fernet ausgesprochenen Ansicht neigten, dass der nicht einfach absorbirte Antheil der Blutkohlensäure im Blute mit dem sauren phosphorsauren Natrium als Doppelsalz gebunden sei, welches Salz auch Preyer[2]) krystallinisch darstellte, fand Sertoli[3]), dass in der Rindsblutasche, nach Abzug der aus dem Phosphor des Lecithins entstandenen Phosphorsäure, in 100 g Blutserum nur 0.005 g $Na_2HPO_4$ sich finden, eine Quantität, die nicht mehr als höchstens 0.75 Vol. Kohlensäure für 100 Vol. Serum zu binden vermag. Hieraus ergiebt sich die Unmöglichkeit, die Bindung der Kohlensäure im Rinderblut vom Alkaliphosphat herzuleiten. Neben dieser geringen Menge des Phosphates fand Sertoli 0.1165 Proc. $Na_2O$. Schon die Hälfte dieser Quantität Natron als saures Carbonat angesehen würde bei der Zersetzung durch Säuren 42 Vol.-Proc. des Blutvolumens an Kohlensäure sich entwickeln lassen. Diese Natronquantität ist also mehr als hinreichend zur Erklärung der Bindung der Kohlensäure im Rindsblute. Die Gesammtkohlensäure des Blutes ist fast völlig im Serum enthalten, während an Sauerstoff das Serum nur so viel enthält, als es dem Absorptionscoefficienten seines Wassers entspricht. Der Träger des Sauerstoffs im Blut sind daher die rothen Blutkörperchen oder präciser das Hämoglobin, welches mit dem Sauerstoff eine leicht zersetzliche, schon durch das Vacuum dissociirbare Verbindung, das Oxyhämoglobin, bildet.

Blutasche. Als Bestandtheile der Blutasche hat man gefunden: Natron, Kali, Kalk, Magnesia, Eisenoxyd, Phosphorsäure, Schwefelsäure und Kohlensäure, Chlor und Spuren von Fluor; nicht constant Kieselsäure. Zu den ebenfalls zufälligen Bestandtheilen der Blutasche gehört das Mangan, Kupfer[4]) und Blei; das letztere fast immer bei chronischer Bleivergiftung. Der Gehalt des Gesammtblutes an Aschenbestandtheilen beträgt 0.8 bis 1.3 Proc. Ueber die Methoden der Aschenuntersuchung siehe Art.: Asche organischer Körper.

100 Theile Blutasche haben nach den Analysen von Verdeil[5]) folgende Zusammensetzung:

---

[1]) Kotelewski, Med. Centr. 1870, Nr. 53 u. 54.
[2]) W. Preyer, Centr. f. d. med. Wissensch. 1866, S. 321.
[3]) Sertoli, Centr. f. d. med. Wissensch. 1868, Nr. 10.
[4]) Béchamp, Journ. de la Physiol. **3**, 197.
[5]) Verdeil, Ann. Chim. Pharm. **69**, 89.

| | Schafblut | | Kalbsblut | |
|---|---|---|---|---|
| | 1. | 2. | 1. | 2. |
| Chlornatrium . . | 57.11 | 50.62 | 50.19 | 59.53 |
| Natron . . . . . | 13.33 | 13.40 | 10.39 | 10.40 |
| Kali . . . . . . | 5.29 | 7.93 | 11.74 | 9.81 |
| Kalk . . . . . . | 1.00 | 1.10 | 1.85 | 1.60 |
| Magnesia . . . . | 0.30 | 0.82 | 1.15 | 1.19 |
| Eisenoxyd . . . . | 8.70 | 9.17 | 8.16 | 7.80 |
| Phosphorsäure . . | 5.21 | 4.99 | 8.36 | 6.73 |
| Schwefelsäure . . | 1.65 | 1.91 | 1.34 | 1.21 |
| Kieselsäure . . . | — | — | — | — |
| Kohlensäure . . . | 7.09 | 6.35 | 3.77 | 3.57 |
| | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |

| | Schweinsblut | | Hundeblut | | Menschenblut | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1. | 2. | 1. | 2. | 1. | 2. |
| Chlornatrium . . . . . . . | 41.31 | 49.51 | 49.85 | 50.98 | 61.99 | 55.63 |
| Natron . . . . . . . . . . | 7.62 | 5.33 | 5.78 | 2.02 | 2.03 | 6.27 |
| Kali . . . . . . . . . . . | 22.21 | 18.54 | 15.16 | 19.16 | 12.70 | 11.24 |
| Kalk . . . . . . . . . . . | 1.20 | 1.90 | 0.10 | 0.70 | 1.68 | 1.85 |
| Magnesia . . . . . . . . . | 1.21 | 0.97 | 0.67 | 4.38 | 0.99 | 1.26 |
| Eisenoxyd . . . . . . . . . | 9.10 | 9.50 | 12.75 | 8.65 | 8.06 | 8.68 |
| Phosphorsäure . . . . . . . | 12.29 | 12.75 | 13.96 | 11.69 | 9.36 | 11.10 |
| Schwefelsäure . . . . . . . | 1.74 | 1.34 | 1.71 | 1.08 | 1.70 | 1.64 |
| Kieselsäure . . . . . . . . | — | — | — | — | — | — |
| Kohlensäure . . . . . . . . | 0.69 | 0.36 | 0.53 | 0.37 | 1.43 | 0.95 |
| | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |

Die getrennt analysirte Serumasche zeigte nach Weber im Vergleich zu der des Blutkuchens desselben Pferdeblutes folgende Zusammensetzung:

| | Serum | Blutkuchen |
|---|---|---|
| Chlornatrium . . . . . | 72.88 | 17.36 |
| Chlorkalium . . . . . . | — | 29.87 |
| Kali . . . . . . . . . | 2.95 | 22.36 |
| Natron . . . . . . . . | 12.93 | 3.55 |
| Kalk . . . . . . . . . | 2.28 | 2.58 |
| Magnesia . . . . . . . | 0.27 | 0.53 |
| Eisenoxyd . . . . . . . | 0.26 | 10.43 |
| Phosphorsäure . . . . . | 1.73 | 10.64 |
| Schwefelsäure . . . . . | 2.10 | 0.09 |
| Kohlensäure . . . . . . | 4.40 | 2.17 |
| Kieselsäure . . . . . . | 0.20 | 0.42 |
| | 100.00 | 100.00 |

Aus dem Vergleich der beiden Tabellen ergiebt sich, dass das Serum nur Spuren von Eisen enthält und die Hauptmenge des Eisens in den Blutkörperchen

enthalten ist. Aehnliches gilt vom Kali und der Phosphorsäure. Umgekehrt scheinen die Natriumsalze nur im Blutserum vorzukommen. Nach der Mittheilung von Sacharjin[1]) kommen in den Blutkörperchen fast gar keine Natriumverbindungen vor und der ganze Natriumgehalt des Blutes ist in der Blutflüssigkeit enthalten. Sacharjin bestimmte im Pferdeblute nach der von Hoppe-Seyler (s. oben) beschriebenen Methode den Gehalt des Gesammtblutes an Blutkörperchen und Blutflüssigkeit. Im ersten Falle enthielten 1000 Theile Blut 334.482 Blutkörper und 665.518 Plasma. Im letzteren 4.824 Fibrin und 660,694 Serum. In 1000 Theilen Blut fanden sich 2.104 Natrium, in dem Serum von 1000 Theilen Blut 1.979 Natrium, Differenz also 0.125. Im zweiten Falle bestanden 1000 Theile Blut aus 255.166 Blutkörperchen, 744.843 Theilen Plasma mit 6.854 Fibrin und 737.980 Serum. Für 1000 Theile Blut ergaben sich 2.023 Theile Natrium, für das Serum von 1000 Theilen Blut 2.113; Differenz also 0.090.

Analyse des Blutes. Die Analyse des Blutes zerfällt in die Analyse des Gesammtblutes und in die des Serums. Die Methoden zur Bestimmung des relativen Gewichtes der feuchten Blutkörperchen, des Faserstoffs und des Hämoglobins wurden oben genannt. Der Wassergehalt des defibrinirten Blutes oder des Blutserums wird gefunden durch Verdunsten von 4 bis 5 g der Flüssigkeit auf dem Wasserbade in einem gewogenen Schälchen und Trocknen des festen Rückstandes im Luftbade bei 110 bis 120°.

Das Eiweiss kann im Blutserum durch Coagulation bestimmt werden. Das Verfahren ist folgendes: Man wägt 4 bis 5 g Blutserum in einem vorher tarirten Gläschen; hierauf werden 15 bis 20 g destillirten Wassers in einer kleinen Porcellanschale zum Kochen erhitzt, das abgewogene Serum in das kochende Wasser hineingegossen, das Gläschen noch einige Male ausgespült und das Spülwasser zu dem übrigen Serum hinzugefügt. Man säuert nun die Flüssigkeit mit einigen Tropfen verdünnter Essigsäure vorsichtig an, bis eine vollständige grossflockige Gerinnung des Albumins eingetreten und das Wasser sich klar und hell vom coagulirten Albumen getrennt hat. Hierauf wird das Coagulum auf ein getrocknetes und gewogenes Filter gebracht, ausgewaschen, bei 110 bis 120° getrocknet und gewogen.

Die vom coagulirten Albumen abfiltrirte Flüssigkeit kann zur Bestimmung der Extractivstoffe und der löslichen unorganischen Salze dienen. Sie wird zu dem Zweck sammt dem Spülwasser zunächst auf dem Wasserbade bis auf ein kleines Volumen verdunstet, sodann in ein abgewogenes Porcellanschälchen gebracht und zunächst auf dem Wasserbade, später im Luftbade bei 110 bis 120° getrocknet und gewogen. Wird der auf dem Schälchen befindliche Rückstand ausgeglüht bis zur vollständigen Verbrennung der Kohle, so entspricht der Gewichtsverlust demjenigen der Extractivstoffe, während das Gewicht des geglühten Rückstandes die Menge der löslichen unorganischen Salze angiebt. Auch durch Fällung mit Alkohol kann der Eiweissgehalt des Serums bestimmt werden. Eine genau gewogene Menge des Serums wird in einem hinreichend grossen Becherglase mit dem drei- bis

[1]) Sacharjin, Virchow's Arch. **21**, 337.

Cholesterin wird bei 100° getrocknet und nach Erkalten im Exsiccator gewogen. Die wässerige, durch Aether vom Cholesterin befreite Lösung wird mit Salpeter im Ueberschuss versetzt, in einer Silberschale zur Trockne verdunstet und ausgeglüht. Die Schmelze in heissem salpetersäurehaltigem Wasser gelöst und mit molybdänsaurem Ammoniak gefällt. Der Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammoniak in verdünntem Ammoniak gelöst und mit ammoniakalischer Magnesialösung gefällt. Das gefundene Gewicht der phosphorsauren Magnesia multiplicirt mit der Zahl 7.2748 giebt die Quantität Lecithin des Aetherauszuges. Da die anderen im Blute vorkommenden phosphorsauren Salze in Aether unlöslich sind, so ist der Phosphorgehalt des Aetherauszuges als Lecithin zu berechnen. Das Lecithin $C_{44}H_{90}NPO_9$ enthält 8.798 Proc. $P_2O_5$ (Hoppe-Seyler).

Blutflecken. Der Nachweis, ob die auf Kleidern, Wäsche, Holz-, Stein- oder Metallgegenständen befindlichen Flecken von Blut herrühren, wird mikroskopisch, spectralanalytisch oder auf chemischem Wege dargethan. Mikroskopisch werden die Flecken als aus Blut bestehend erkannt, wenn in dem von dem Zeug oder Metall abgeschabten und mit wenig Wasser aufgeweichten Präparate die Formelemente des Blutes, d. h. die Blutkörperchen, constatirt werden. Sind die Blutflecken nicht zu alt, so lässt sich bei der Verschiedenheit der rothen Blutkörperchen des Menschen und der Säugethiere von denen der Vögel, Amphibien und Fische (Form, Kern siehe oben) auch ermitteln, ob die Flecken von ersteren oder letzteren herrühren. In den alten eingetrockneten Blutflecken ist die Form der Blutkörperchen jedoch in der Regel zerstört und das Mikroskop gewährt dann keinen Anhaltspunkt. Viel sicherer wird das Vorhandensein des Blutes auf spectralanalytischem und chemischem Wege constatirt, welcher auf dem Nachweise des Hämoglobins oder des Hämatins beruht. Da in den meisten forensischen Fällen die Menge des zur Untersuchung gelieferten in den Blutflecken eingetrockneten Blutes sehr gering ist und man öfters mit einem und demselben Fleckenauszuge verschiedene Blutproben anstellen muss, so ist folgendes von Hoppe-Seyler[1]) vorgeschlagene Verfahren das zweckmässigste: Man digerirt die aus den Kleidungsstücken, Holz, Metall u. s. w. abgeschabte Substanz in einem Schälchen mit wenig Wasser, filtrirt in ein Proberöhrchen und untersucht spectroskopisch auf die Gegenwart der beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins. Ist die Quantität des Filtrats sehr gering, so lässt man es auf dem Uhrglase im Vacuum über Schwefelsäure zur Trockne verdunsten und prüft den Rückstand vor dem Spalt des Spectroskopes am besten vermittelst eines Heliostaten beim directen Sonnenlichte. Sind die beiden charakteristischen Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins deutlich erkennbar, so ist damit die Anwesenheit des Blutfarbstoffes sicher erwiesen. Es ist jedoch hierbei nöthig, frisch dargestellte Hämoglobinlösungen spectroskopisch mit denen aus dem Fleckenauszuge erhaltenen zu vergleichen, da es auch Stoffe giebt, wie z. B. Carmin, dessen ammoniakalische Lösungen im Lichtspectrum dem Hämoglobin ähnliche, nur durch ihre Stellung verschiedene Absorptionsstreifen zeigen. Hat man keinen Absorptionsstreifen gefunden, oder sind dieselben nur undeutlich wahrnehmbar, was zuweilen schon

[1]) Hoppe-Seyler, Physiol.- u. pathol.-chem. Anal., Berlin 1870.

bei 8 bis 14 Tage alten Blutflecken der Fall ist, so versucht man durch Nachw des Hämatins die Gegenwart des Blutes zu beweisen. Zu dem Zwecke wird spectroskopisch untersuchte Rückstand auf einem Uhrglase mit einem Körnc Kochsalz verrieben und durch Zusatz von möglichst wenig Eisessig in Lös gebracht. Man erhitzt diese Lösung für einen Augenblick zum Sieden, lässt d bei gelinder Wärme verdunsten und untersucht den Rückstand mit dem Mikros bei mindestens 300maliger Vergrösserung auf das Vorhandensein von salzsau Hämatinkrystallen (s. oben Hämatin). Die Darstellung der Hämatinkrystalle ist Beweis für das Vorhandensein von Blut ebenfalls entscheidend. Zur völli Sicherheit kann man noch folgende Proben anstellen: Nach der spectroskopisc Prüfung versetzt man die Hämatinkrystalle mit wenig Wasser, worin sie unlös sind, bringt sie auf ein Filter, wäscht aus und löst in wenig verdünnter Natronla die alkalische Hämatinlösung erscheint in dünnen Schichten grünlich, in dick roth. Man verdunstet sie zur Trockne, glüht den Rückstand aus, löst ihn in we reiner Salzsäure und prüft mit Ferrocyankalium oder Schwefelcyankaliumlösung Eisenoxyd. Der Nachweis des Albumens, des Stickstoffs und des Eisens in d Fleckenauszuge ist als Beweis für die Anwesenheit von Blut nicht entscheidend; unzweifelhafte Sicherheit gewährt neben den spectroskopischen Absorptionsstre nur die Darstellung der Hämatinkrystalle und die Nachweisung des Eisens.

---

# Ueber die Bildung des Indols aus dem Eiweiss bei der Pankreasverdauung

von

F. Frankiewicz.

Inaug.-Diss. Be

Im Vergleich zu den Veränderungen, die das Eiweiss durch den Magensaft bildet, sind die durch den pankreatischen Saft hervorgebrachten sehr augenfä Man kann sie kurz als eine tiefergehende Zersetzung des Eiweisses bezeichnen, sie lässt sich in Rücksicht auf die auftretenden Spaltungsproducte mit der Zerset des Albumens durch Kochen mit verdünnten Säuren oder Alkalien, am besten mit der Zersetzung des Eiweisses durch Fäulniss vergleichen. Während die Ma peptone noch nahezu dieselbe procentische Zusammensetzung an Elementarbest

theilen[1]) wie das Albumen haben, und auch an Nährwerth ihm gleich sind, sehen wir bei der Pankreasverdauung, dass die hier entstehenden Peptone durchschnittlich 10 Proc. Kohlenstoff weniger enthalten, als das unveränderte Eiweiss[2]). Daneben treten hier krystallinische Spaltungsproducte, wie Leucin, Tyrosin, Asparaginsäure und Glutaminsäure auf; bei der Leimverdauung ausser den Leimpeptonen, die ebenfalls durchschnittlich 10 Proc. Kohlenstoff weniger enthalten, neben Leucin auch noch Glycocoll. Es sind dies Alles Spaltungsproducte des Albumens, die man aus ihm durch Kochen mit verdünnten Säuren bereits früher dargestellt hat.

Ein der Pankreasverdauung eigenthümliches, bis jetzt aber noch nicht mit völliger Sicherheit nachgewiesenes Spaltungsproduct des Eiweisses ist das von Baeyer aus dem Indigo erhaltene Indol. Cl. Bernard[3]) machte zuerst aufmerksam auf die schön rothe Färbung, welche der der Zersetzung überlassene Pankreassaft mit salpetrige Säure enthaltender Salpetersäure annimmt (eine für das Indol charakteristische Reaction) und W. Kühne[4]) den bei der Pankreasverdauung sich entwickelnden Geruch verglich mit dem nach Naphtylamin oder Indol. Die letzten Untersuchungen des Herrn Professor Nencki[5]) hierüber haben gezeigt, dass diese Substanz jedenfalls Indol sein muss, und es gelang ihm, den durch Einwirkung rauchender Salpetersäure auf die Destillate der Pankreasverdauungsflüssigkeit entstehenden rothen Farbstoff zu isoliren und durch Vergleich der Eigenschaften mit dem von Baeyer als wahrscheinlich salpetrigsaures Indol bezeichneten Farbstoffe als identisch zu erkennen.

Da nun durch die Versuche von Jaffé[6]) und Masson[7]) es erwiesen ist, dass das Indol im Thierkörper zu Indigblau oxydirt werde, so wäre die Quelle dieses normalen Harnfarbstoffes gefunden, wenn es gelingen könnte, das Indol mit Sicherheit als eine im thierischen Organismus entstehende Substanz nachzuweisen. Ich habe die hierauf bezüglichen Untersuchungen auf Anregung des Herrn Professor Nencki unternommen, und es ist mir gelungen, das Indol in Substanz aus dem Eiweiss darzustellen und durch Elementaranalyse und Schmelzpunktbestimmung die Identität mit dem von Baeyer aus Oxyindol erhaltenen Indol festzustellen, so wie auch annähernd die Quantität, welche aus dem Albumen abgespalten wurde, zu bestimmen.

Ich will nun zunächst die Methode beschreiben, die sich nach vielfachen Versuchen als die zweckmässigste zur Darstellung des Indols herausstellte.

In einem dünnwandigen Becherglase zu fünf Liter Inhalt werden 300 g Serumeiweiss, das käuflich zu beziehen ist, mit $4^1/_2$ Liter Wasser übergossen und mit

[1]) Maly, Ueber die chemische Zusammensetzung und physiologische Bedeutung der Peptone. Pflüger's Archiv 1875. — Ploss, Ueber die Peptone und Ernährung mit denselben. Pflüger's Archiv 1874.

[2]) Kistiakowsky, Ein Beitrag zur Charakteristik der Pankreas-Peptone. Pflüger's Archiv 1874.

[3]) Cl. Bernard. Supplements aux Comptes rendus. **1**, 1856.

[4]) Kühne. Ueber Verdauung der Eiweissstoffe durch Pankreassaft. Virchow's Archiv 1867.

[5]) Ber. 1874, **7**, 1593. — Dieser Band S. 92.

[6]) Jaffé, Medicinisches Centralblatt 1872.

[7]) Masson, Des matières colorantes du groupe indigo. Archive de physiologie etc. Paris 1874. — Dieser Band S. 98.

300 bis 400 g eines frischen, sorgfältig vom Blut und Fett gereinigten und 1
der Scheere fein zerkleinerten Ochsenpankreas vermischt. Das Gefäss sammt d
Inhalt wird in ein Wasserbad gestellt und bis 42° C. erwärmt. Schon nach a
Stunden begann die Zersetzung, aber erst nach fünfzehn Stunden konnte m
deutlich den Geruch nach Indol wahrnehmen. Alsdann wird das Gefäss mit De
papier oder einer Glasplatte zugedeckt, damit das Indol sich nicht verflüchtige. I
Verdauungsprocess dauert etwa drei Tage; die Erfahrung hat nämlich gezeigt, d
erst nach Verlauf dieser Zeit die grösste Menge Indol gebildet werde. Währ
dessen wurde immer die Temperatur auf 42 bis 45° C. erhalten. Am dritten Ta
als die Verdauung vollendet war, wurde die trübe, mit einer Unzahl von Bacter
erfüllte Verdauungsflüssigkeit durch ein leinenes Tuch colirt, um das Schäumen u
Coaguliren des unzersetzten Eiweisses zu verhüten mit Essigsäure angesäuert u
aus einer tubulirten Retorte destillirt. Das schwach getrübte Destillat wurde n
dem Filtriren wasserklar und reagirte sauer. Die Ursache dieser Reaction wa
niedere Fettsäuren, nämlich Essig- und Valeriansäure, welche auch den Geruch
Indols verdeckten. Um diese Fettsäuren von Indol zu trennen, wurde das Desti
mit Kalkhydrat bis zur alkalischen Reaction zersetzt, sodann mit der gleich
Menge Aether gemischt und etwa eine Stunde stehen gelassen, bis die ob
ätherische Schicht völlig klar wurde. Nach dem Abdestilliren des abgegosser
Aethers blieb am Boden der Retorte eine röthliche Flüssigkeit mit deutlichem Ind
geruch. Aus dieser Flüssigkeit schieden sich nach einiger Zeit Krystalle in Fo
von farblosen Blättchen aus. Der Schmelzpunkt derselben war bei 52° C.

Die Elementaranalyse hat Folgendes ergeben:

| Es wurde gefunden: | Die Formel des Indols |
|---|---|
| C 81.52 Proc. | $C_8 H_7 N$ |
| H 6.4 „ | verlangt C 82.02 Proc. |
| | H 5.98 „ |

Zu sehr schönen Resultaten haben mich die Experimente mit dieser Substa
am Kaninchen geführt. Zum ersten Versuch wählte ich die Destillationsflüssigk
aus der Verdauung. Es wurde zuerst der Urin des Kaninchens untersucht und kei
Spur von Indigblau in demselben nachgewiesen. Ich spritzte etwa 30 ccm die
Flüssigkeit unter die Haut des Kaninchens. Die Injection fand statt um 12 U
Mittags. Es wurden keine Intoxicationserscheinungen beobachtet. Um 5 U
Nachmittags erhielt ich durch Druck auf den Unterleib etwa 50 ccm Harn
trüber Beschaffenheit und braunrother Farbe, welcher sogleich filtrirt, mit Salzsä
bis zur Hälfte vermischt, nach Zusatz von wenigen Tropfen Chlorkalklösung s
blau färbte.

Zum zweiten Versuche nahm ich die Indolkrystalle, die nach der Destilla
des Aethers zurückgeblieben waren, löste sie in heissem Wasser und führte e
10 ccm von dieser Lösung durch die hypodermatische Injection dem Kaninc
zu. Der Urin, welcher mittelst des Katheters etwa fünf Stunden nach der I
spritzung entnommen und mit Salzsäure und Chlorkalklösung behandelt wu
zeigte eine blaue Färbung, die viel intensiver als beim ersten Versuche war. N

kurzem Stehen schied sich aus dem Harne ein blauer Niederschlag, der, abfiltrirt und trocken erhitzt, in schönen violetten Dämpfen sublimirte.

Durch die beiden Versuche wurde also der Beweis geliefert, dass das Indol, welches bei der Pankreasverdauung des Albumens entsteht, im thierischen Organismus oxydirt als Indigblau im Urin erscheint.

Eine interessante Erscheinung tritt auf, wenn man zu dem aus der Verdauung des Albumens durch den Pankreassaft erhaltenen Destillate rothe rauchende Salpetersäure zusetzt. Sofort entsteht eine intensive rothe Färbung der Flüssigkeit, aus welcher sich nach einiger Zeit ein schöner rother Farbstoff ausscheidet, der gallertartig in derselben suspendirt ist. Dieser Farbstoff stellt sich unter dem Mikroskope als feine verfilzte Büschel von Krystallen dar. Er löst sich in kaltem Wasser nicht auf, in geringem Grade in heissem; mit Wasser gekocht zersetzt er sich und hinterlässt einen Farbstoff, der, mit concentrirter Schwefelsäure kalt behandelt, sich mit schöner purpurrother Farbe auflöst. In Alkalien ist er am besten löslich, in Mineralsäuren fast gar nicht. In heisser Essigsäure löst er sich und krystallisirt in schönen rothen Nadeln. In Alkohol löst er sich leicht mit dunkelrother Farbe.

Die Unlöslichkeit dieses Farbstoffes in verdünnter Salpetersäure gab die Möglichkeit zur Berechnung der Menge des Indols und des Farbstoffes, welche man aus einer gegebenen Portion Eiweiss erhält. Man bekommt aus einem Kilo Eiweiss etwa $2^1/_2$ bis 3 g Farbstoff, respective auch Indol.

Herr Professor Nencki hat mehrere Versuche über diesen Farbstoff angestellt, doch da er zum Theil durch Kochen mit Wasser zersetzt wird, haben die Analysen noch keine übereinstimmenden Resultate ergeben.

Ich muss hier noch hinzufügen, dass die Salpetersäure rasch und in grösserer Quantität zugegossen werden muss; denn wenn man in geringer Menge die Salpetersäure zusetzt, so bildet sich an Stelle des rothen ein braun-violetter Farbstoff, der amorph ist und von Kali- oder Natronlauge mit grüner Farbe gelöst wird. Auf diese Weise kann man nach Belieben den rothen oder den violetten Farbstoff erhalten.

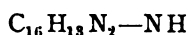
Aehnlich wie aus dem Serumeiweiss bildet sich Indol aus dem Eiereiweiss. Leim mit Pankreas digerirt liefert auch Spuren Indol, was wahrscheinlich aber von dem Eiweiss der Drüse herrührt.

---

## Zusatz von Professor Nencki.

Erst nachdem Herr Doctor Frankiewicz die vorliegende Arbeit der hiesigen medicinischen Facultät als Dissertation einreichte, erhielt ich die Abhandlung von Kühne (Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1875, S. 206) über den gleichen Gegenstand. Kühne's Ansicht, dass man kaum hoffen kann, je aus den Verdauungsflüssigkeiten Indol in hinreichenden Mengen rein für die Analyse zu gewinnen, wird durch die obige Mittheilung widerlegt. Meine fortgesetzten Untersuchungen haben ferner ergeben, dass das Molekulargewicht des Indols gleich

$C_{16}H_{14}N_2$ ist, d. h. dass die von Baeyer aus den Analysen abgeleitete Formel: $C_8H_7N$ verdoppelt werden muss. Der rothe, durch Einwirkung von rauchender Salpetersäure auf wässerige Indollösungen erhaltene Farbstoff ist salpetersaures Nitrosoindol $= C_{16}H_{13}(NO)N_2NO_3H$. Durch Reduction des Nitrosoindols mittelst alkoholischen Schwefelammoniums habe ich das Hydroazoindol

$$C_{16}H_{13}N_2—NH$$
$$C_{16}H_{13}N_2—NH$$

erhalten. Ich werde an einem anderen Orte darüber ausführlich berichten.

---

# Ueber den chemischen Vorgang bei der Bildung der Hippursäure im Thierkörper

von

**L. Spengel.**

Inaug.-Diss. Bern.

In den Berichten der deutschen chemischen Gesellschaft hat Herr Professor Dr. M. v. Nencki[1] auf einen bis dahin noch nicht genügend anerkannten chemischen Vorgang im Thierkörper aufmerksam gemacht und auf die Möglichkeit hingewiesen, dadurch die Entstehungsweise einer Reihe dem Thierkörper eigenthümlicher Verbindungen auf eine einfache Art zu erklären. Es ist dies der im Pflanzenreiche so häufig vorkommende Process der Wasserentziehung und die darauf folgende Synthese kohlenstoffreicherer Verbindungen[2]. Obgleich nun die Anhydritbildung durch die Versuche von Schoepfer[3], wonach in der Leber aus Traubenzucker unter Austritt von Wasser Glycogen gebildet werde, sowie auch wohl durch spätere Versuche[4]) unzweifelhaft bewiesen, so scheint es, dass die Ansicht, dass im Thierkörper, dessen wichtigste Thätigkeiten wesentlich auf Oxydationsprocesse hinausgehen, daneben synthetische, wie die Wasserentziehungsprocesse es sind, bestehen könnten, kein allgemeine Anerkennung gefunden hat. So glauben z. B. E. Baumann und

[1] Jahrgang 1872, S. 890. — Dieser Band S. 43.

[2] A. Baeyer, Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft 1870, S. 63.

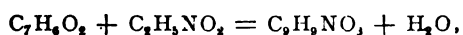
[3] Inaugural-Dissertation Bern 1872. — Dieser Band S. 46.

[4] Naunyn, Beiträge zur Lehre vom Diabetes Mellitus, Leipzig 1874 (Archiv für experim. Pathologie).

F. Hoppe-Seyler[1]), „dass, obwohl der Organismus eine nicht geringe Anzahl von Stoffen bildet, welche man als Anhydrite betrachten kann, doch dieselben nicht durch Wasserentziehung, sondern durch Addition von Resten im Status nascens derselben entstehen und es steht diese Annahme in Uebereinstimmung mit den vielfachen Beobachtungen über synthetische Anhydrid-Amid-Aetherbildungen u. s. w., die ebenso, wie viele Condensationen besonders dann gebildet werden, wenn durch Oxydationen oder andere starke Affinitäten einzelne Atome aus Verbindungen herausgerissen werden und den hierdurch entstehenden Resten Gelegenheit gegeben wird, sich gegenseitig zu sättigen". Es unterliegt wohl keinem Zweifel, dass auch solche Additionsprocesse im Organismus vorkommen können, was bereits Prof. v. Nencki in seiner soeben citirten Abhandlung (dieser Band S. 43) angedeutet hat, wo er die Möglichkeit der Entstehung des Kreatins im Thierkörper durch eine Addition von Cyanamid zu Sarcosin hinstellt. Für viele Fälle jedoch, wo im Thierkörper complicirtere Verbindungen entstehen, ist die Annahme einer Synthese durch Addition von Resten im Status nascens durchaus nicht wahrscheinlich, während sich die Entstehung solcher Verbindungen, wie z. B. des Glycogens aus Traubenzucker oder der Hippursäure aus Benzoësäure und Glycocoll, sehr einfach durch Wasseraustritt erklären lässt. Es war von vornherein anzunehmen, dass sowohl die Additions- als die Wasserentziehungsvorgänge im Thierkörper stattfinden.

Meine nunmehr zu beschreibenden Versuche, die ich zur Entscheidung der Frage, ob im Thierorganismus Synthesen durch Wasseraustritt vorkommen, unternahm, haben obige Fragen mit Sicherheit im bejahenden Sinne beantwortet. Es ist bekannt, dass die dem Thierkörper zugeführte Benzoësäure als Hippursäure ausgeschieden wird. Die Menge der nach Zufuhr von Benzoësäure ausgeschiedenen Hippursäure ist bei verschiedenen Thierclassen sehr wechselnd. Pflanzenfresser scheinen überhaupt nach Genuss von Benzoësäure die grösste Quantität Hippursäure auszuscheiden. Der Mensch, der unter normalen Verhältnissen durchschnittlich 0.25 bis 0.45 g täglich zu produciren vermag, bildet nach Zufuhr von Benzoësäure verhältnissmässig viel Hippursäure. Prof. v. Nencki, der einem an Lungenemphysem leidenden, sonst jedoch gesunden Manne innerhalb zweier Tage hinter einander 15 g Natr. benzoic. pro die verordnete und hierauf den während 24 Stunden gelassenen Harn untersuchte, erhielt als Resultat nur Hippursäure, dagegen nach Zufuhr von 20.0 g Natr. benzoic. unveränderte Benzoësäure neben Hippursäure. Hiernach schwankt die Menge der nach Benzoësäure ausgeschiedenen Hippursäure zwischen den obigen Grenzen. Im normalen Hundeharn fehlt die Hippursäure öfters gänzlich und auch nach Fütterung mit Benzoësäure bilden die Hunde verhältnissmässig sehr wenig Hippursäure. So hat Prof. v. Nencki[2]) gefunden, dass grosse Hunde schon nach 1.0 g Benzoësäure neben Hippursäure auch unveränderte Benzoësäure ausscheiden.

Ist nun der Vorgang der Bildung der Hippursäure nach dem Schema

$$C_7H_6O_2 + C_2H_5NO_2 = C_9H_9NO_3 + H_2O,$$

so müsste bei einem Thiere, wie dem Hunde, welcher nach Genuss von wenig

[1]) Ber. 1874, S. 34.

[2]) Archiv von C. B. Reichert und E. du Bois-Reymond 1870. — Dieser Band S. 17.

ɜnzoësäure unveränderte Benzoësäure ausscheidet, bei gleichzeitiger Darreichu
on Glycocoll die Menge der gebildeten Hippursäure eine bedeutend grössere se
Eine andere Erklärung für die dann eintretende vermehrte Hippursäureausscheidu
als die durch Synthese unter Wasseraustritt ist nicht gut denkbar und die vermeh
Hippursäurebildung ist als Beweis hierfür anzunehmen. Diese Voraussetzung b
stätigten vollkommen meine Versuche. Zu denselben diente mir ein Hund v
15 kg Körpergewicht, der während der ganzen Dauer meiner sämmtlichen Versuc
per Tag 250 g Muskelfleisch, 125 g Brot und einen halben Liter Milch erhielt u
der so abgerichtet war, dass er allen Harn täglich zweimal in ein untergehalte
Glas entleerte. Zunächst untersuchte ich dessen normalen Harn auf den Hippu
säuregehalt. Zu dem Zwecke wurde der Harn auf dem Wasserbade verdunstet, d
Rückstand mit Alkohol behandelt und von den gefällten unorganischen Salzen al
filtrirt, sodann mit dem Filtrate der zugesetzte Alkohol ebenfalls auf dem Wasse
bade verdunstet, nach dem völligen Erkalten mit überschüssiger verdünnter Schwefe
säure angesäuert und hierauf mit Aether geschüttelt. Der abgegossene u
abdestillirte Aether hinterliess keine wägbare Menge von Hippur- oder Benzoësäur
Mein erster Fütterungsversuch bestand in Darreichung von 3 g Benzoësäure. B
der Untersuchung befolgte ich das oben beschriebene Schema oder ich fällte vorer
den Harn, wie bei den unten zu beschreibenden Versuchen mit Alanin, mit basischen
Bleiacetat und untersuchte sodann den entstandenen Niederschlag besonders. Die
Extractionen mit Aether wurden so lange in allen Versuchen wiederholt, bis der
abdestillirte Aether keinen Rückstand mehr hinterliess. Das Resultat dieses ersten
Versuches war, dass der Aether nach dem Verdunsten neben Hippursäure auch
Benzoësäure, etwa zu gleichen Theilen, hinterliess. Beide zeigten sich unter dem
Mikroskop leicht erkennbar. Nach Verlauf von wenigen Tagen bekam der Hun
3 g Natr. benzoic. (entsprechend $2^1/_2$ g ac. benz.). Das Resultat ergab ebenfal
Benzoësäure neben Hippursäure und zwar vorwiegend Benzoësäure. Bei Wiede
holung dieses Versuches erhielt ich im dritten Auszug mehr Hippursäure als Benzo
säure. Nach einer Unterbrechung von fünf oder sechs Tagen fütterte ich den Hu
mit 5 g Glycocoll und 5 g Benzoësäure. Das zu Fütterungsversuchen benut
Glycocoll wurde theils aus der künstlichen Leimverdauung mit Pankreas, theils
Hippursäure dargestellt. Das erhaltene Glycocoll wurde dann noch durch Koc
mit kohlensaurem Kupfer in das Kupfersalz übergeführt, welches letztere, du
Schwefelwasserstoff zersetzt, reines Glycocoll lieferte. Bei der Untersuchung
nach Fütterung mit Benzoësäure und Glycocoll gesammelten Harns schlug
dasselbe Verfahren ein wie bei meinen früheren Versuchen und erhielt als Res
keine Spur von Benzoësäure, vielmehr nur Hippursäure und zwar in beträchtl
Menge. Nach Darreichung von 5 g Glycocoll und 5 g Natr. benzoic., w
Substanzen ich zuvor innig gemischt hatte und dem Hunde in zwei Dosen
erhielt ich eine Ausbeute von 2.31 g Hippursäure. Diese obigen Versuche, v
fast bei der doppelten Dosis von Benzoësäure und gleichzeitiger Fütterur
Glycocoll nur Hippursäure im Harne gefunden habe, beweisen zur Genüg
das mitgefütterte Glycocoll im Organismus des Hundes mit der Benzoësäur
Wasseraustritt zur Hippursäure gepaart wurde. Als Sitz dieses Processes

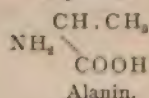
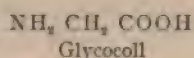
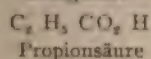
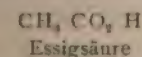
der grössten Wahrscheinlichkeit die Leber zu betrachten, wie dies auch nach den früheren Versuchen von Kühne und Hallwachs anzunehmen. Auch geht das aus den oben citirten Versuchen von Schoepfer hervor, wonach die Bildung des Glycogens aus Traubenzucker in der Leber stattfindet. Es ist auch wahrscheinlich, dass nach Darreichung von grösseren Dosen Benzoësäure und Glycocoll ihre Vereinigung im Organismus zur Hippursäure eingetreten wäre; es war indessen nicht zulässig, da nach Verabreichung von zu grossen Quantitäten Benzoësäure Hunde unter wuthähnlichen Anfällen erkranken und sich schwer wieder erholen. Bei den von mir verabreichten Quantitäten befand sich der Hund immer ganz wohl.

Noch auf einem anderen Wege liesse sich der Wasserentziehungsprocess im Thierkörper nachweisen. Da das Glycocoll eine Amidoessigsäure ist, so war die Möglichkeit vorhanden, dass eine ihm homologe Verbindung im thierischen Organismus ebenfalls mit Benzoësäure gepaart werde. Eine solche Verbindung ist das von Strecker aus Aldehyd, Blausäure und Ammoniak dargestellte Alanin. Das Alanin ist eine Amidopropionsäure und steht in dem gleichen Verhältniss zu Glycocoll wie die Essigsäure zur Propionsäure:

$CH_3\,CO_2\,H$
Essigsäure

$C_2\,H_5\,CO_2\,H$
Propionsäure

$NH_2\,CH_2\,COOH$
Glycocoll

$$NH_2 \diagdown \begin{matrix} CH.CH_3 \\ COOH \end{matrix}$$
Alanin.

Unter der Voraussetzung, dass sich das Alanin im Thierkörper ähnlich wie das Glycocoll verhalte, war daher nach gleichzeitiger Darreichung von Alanin und Benzoësäure einem Hunde das Auftreten einer der Hippursäure homologen Benzoilamidopropionsäure zu erwarten. Diese Voraussetzung hat sich jedoch nicht bestätigt, wie aus meinen mit Alanin angestellten Versuchen hervorgeht. Ich gab einem Hunde 5 g Alanin, das mir Herr Prof. v. Nencki bereitwilligst zur Verfügung gestellt, und dieselbe Dosis Benzoësäure. Der Harn wurde zunächst mit basisch essigsaurem Blei ausgefällt, das überschüssige essigsaure Blei durch Schwefelwasserstoff entfernt und wie oben behandelt. Die Krystalle, welche sich nach Verarbeitung des Harns ausschieden, erwiesen sich, schon unter dem Mikroskop betrachtet, als Hippursäure ohne jede Beimischung von Benzoësäure. Auch aus dem Bleiessigniederschlage konnte keine andere Substanz als etwas Hippursäure isolirt werden. Der völligen Sicherheit halber wurden die schon ziemlich reinen Krystalle noch einmal aus heissem Wasser umkrystallisirt und ergaben bei der Elementaranalyse folgende Zahlen:

0.242 g der unter Schwefelsäure getrockneten Substanz lieferten 0.5318 $CO_2$ und 0.119 $H_2O$.

Oder in Procenten:

| Es wurde gefunden: | Die Formel der Hippursäure verlangt: |
|---|---|
| C 60.0 Proc. | $C_9$ 60.3 Proc. |
| H 5.4 „ | $H_9$ 5.0 „ |
| | N 7.8 „ |
| | $O_3$ 26.7 „ |

Das Auftreten von Hippursäure im Harne nach Fütterung mit Benzoësäure und Alanin ist jedenfalls eine interessante Beobachtung. Es ist schwer zu entscheiden, ob das mitgefütterte Alanin zunächst zu Glycocoll umgewandelt worden oder vielleicht in ihm aus anderem (wie z. B. aus der Glycocholsäure) im Thierkörper vorkommenden Glycocollverbindungen Glycocoll freimachte, selbst an dessen Stelle eintretend, wodurch dann das freigewordene Glycocoll zur Hippursäurebildung verwendet werden konnte. Nach Fütterungsversuchen, die ich mit Alanin allein am Hunde angestellt habe, konnte ich kein Alanin im Harne wiederfinden. Sehr wahrscheinlich wird das Alanin in diesem Falle ähnlich, wie dies bei Glycocoll und Leucin der Fall ist, zu Harnstoff umgewandelt.

---

Schliesslich sei es mir vergönnt, an dieser Stelle den Gefühlen des Dankes Ausdruck zu geben, welchen ich Herrn Prof. Dr. v. Nencki schulde für das rege Interesse, welches er stets meiner Arbeit geschenkt hat, sowie für die freundlichen Rathschläge, welche er mir im hiesigen patholog.-chem. Laboratorium zu jeder Zeit ertheilte.

Bern, patholog. Institut, April 1875.

# 1876

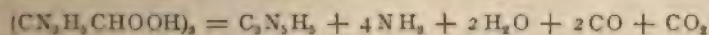
## Ueber das Propylen- und das Isopropylenguanamin

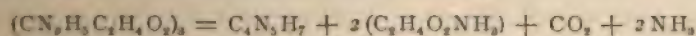
von

**M. Nencki.**

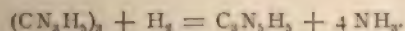
Ber. **9**, 228. (Eingegangen am 14. Febr. 1876; verl. in d. Sitzung von Herrn Oppenheim.)

In meiner letzten Mittheilung über die beim Erhitzen des ameisensauren und des essigsauren Guanidins entstehenden Basen[1]), das Formo- und das Acetoguanamin, habe ich angegeben, dass die Zersetzung des ameisensauren Guanidins nach der Gleichung:

$$(CN_3H_5CHOOH)_3 = C_3N_5H_5 + 4NH_3 + 2H_2O + 2CO + CO_2$$

und die des essigsauren Guanidins nach der Gleichung:

$$(CN_3H_5C_2H_4O_2)_3 = C_4N_5H_7 + 2(C_2H_4O_2NH_3) + CO_2 + 2NH_3$$

vor sich geht.

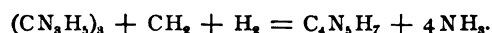
Aus den obigen Gleichungen war auch zu ersehen, welchen Antheil die beiden Säuren an der Bildung des Formo- resp. Acetoguanamins hatten. So werden in der ersten Gleichung zwei Moleküle der Ameisensäure geradezu in Wasser und Kohlenoxyd gespalten, das dritte aber zerfällt in $CO_2$ und $H_2$, indem die beiden Wasserstoffe zur vollständigen Ueberführung der Amidogruppen des Guanidins zu Ammoniak erforderlich sind:

$$(CN_3H_5)_3 + H_2 = C_3N_5H_5 + 4NH_3.$$

Eine durchaus analoge Rolle hat die Essigsäure bei der Bildung des Aceto-

[1]) Ber. **7**, 1591. — Dieser Band S. 90.

guanamins. Während zwei Moleküle der Säure unverändert als Ammoniaksalz a treten, zerfällt das dritte in $CO_2 + CH_2 + H_2$.

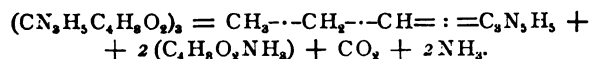
Auch hier dienen die beiden Wasserstoffatome zur Ueberführung zweier Ami gruppen in Ammoniak; das gleichzeitig auftretende Methylen aber tritt in Molekül der entstehenden Base selbst ein:

$$(CN_3H_5)_3 + CH_2 + H_2 = C_4N_5H_7 + 4NH_3.$$

Diese auf genaue Untersuchung der Spaltungsproducte gestützte Ansicht ü den Entstehungsmodus der Guanamine liess erwarten, dass auch die anderen e basischen, homologen Fettsäuren mit Guanidin erhitzt eine homologe Reihe basisc Körper liefern würden, deren Bildung nach dem angegebenen Schema des Forn und des Acetoguanamins vor sich gehen würde. Der zunächst mit dem buttersau Guanidin angestellte Versuch hat auch diese Erwartung vollkommen bestätigt.

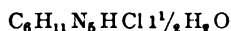
Schon die erste Probe in einem Reagensröhrchen zeigte, dass durch Erhit des buttersauren Guanidins bis zu starker Ammoniakentwickelung und Fällen erkalteten Schmelze mit Natronlauge ein krystallinischer Körper von basiscl Eigenschaften abgeschieden werden konnte. Um die Base in grösseren Quantitä darzustellen, wurden 320 g normaler Buttersäure (aus der Fabrik von Kahlbaı in Berlin) der fractionirten Destillation unterworfen. Die Flüssigkeit begann 153° C. zu sieden und bis 158° C. gingen 45 g über. Die zwischen 157 bis 1 siedende Fraction — 193 g betragend — wurde als normale Buttersäure Darstellung der Base verwendet. Die zwischen 164 bis 180° C. siedende Fract — 50 g — war nicht mehr vollständig in Wasser löslich. In der Retorte bliel etwa 30 g eines in Wasser unlöslichen und darauf schwimmenden Oeles zurü Das buttersaure Guanidin, erhalten durch Zersetzen des reinen kohlensauren Sal wurde in einem Kolben allmählich bis auf 220 bis 230° C. erhitzt, wobei reichli Ammoniakentwickelung die Zersetzung des Salzes anzeigte. Nach etwa einstündig Erhitzen auf 230° C. wurde die schwach gelb gefärbte Schmelze nach dem Erkal mit heissem Wasser ausgezogen und von dem gleichzeitig gebildeten, unlöslich amorphen Rückstand heiss filtrirt. Aus dem Filtrate scheidet sich nach Zusatz v concentrirter Natronlauge die neue Base als weisser, krystallinischer Niederschlag Nach Verlauf von mehreren Stunden wird filtrirt, mit kaltem Wasser gewaschen u der Niederschlag auf Fliesspapier getrocknet. Zur weiteren Reinigung der B wird am zweckmässigsten durch Auflösen in möglichst wenig verdünnter Salzsäı das salzsaure Salz dargestellt, wobei sich in amorphen Flocken ein hartnäckig Base anhängender, stickstoffreicher Körper abscheidet. Durch Umkrystallisiren salzsauren Salzes aus Alkohol, Zersetzen mit Natronlauge und nochmali Umkrystallisiren der freien Base aus heissem Wasser wird sie in reinem Zustan erhalten. Die Elementaranalysen dieser Verbindung ergaben mit der Forn $C_6H_{11}N_5$ übereinstimmende Zahlen.

| Es wurde gefunden: | | | berechnet: | |
|---|---|---|---|---|
| C | 46.50 und 46.64 Proc. | | $C_6$ | 47.05 Proc. |
| H | 7.33 „ 7.26 „ | | $H_{11}$ | 7.18 „ |
| N | 45.64 „ | | $N_5$ | 45.77 „ |

Diese Base, die ich Propylenguanamin nennen werde, ist demnach eine dem Formo- und dem Aceto- (Methylen-) Guanamin homologe und ihre Bildung aus dem buttersauren Guanidin beruht auf dem gleichen Vorgange:

$$(CN_3H_5C_4H_8O_2)_3 = CH_3{-}\cdot{-}CH_2{-}\cdot{-}CH{=}:{=}C_3N_5H_5 + \\ + 2(C_4H_8O_2NH_3) + CO_2 + 2NH_3.$$

Das Propylenguanamin krystallisirt wasserfrei. Beim langsamen Erkalten oder Verdunsten der wässerigen Lösung auf dem Wasserbade krystallisirt es in viereckigen Tafeln, deren Winkel ein rechter ist. Rasch aus heisser Lösung abgeschieden, erhält man es in kugeligen Krystallen, oder in hemiëdrischen Gestalten (Sphenoïden) mit krummen Flächen. Es löst sich in 53.7 Theilen Wasser bei 14.5° C. und in 7 Theilen siedend heissen Wassers. Aus der wässerigen Lösung wird es durch Zusatz von starker Natronlauge gefällt, worin es ziemlich unlöslich ist; durch Ammoniak wird es weder aus der sauren, noch neutralen Lösung gefällt. In Alkohol, namentlich in der Wärme, ist es leicht löslich. Man erhält aus 50 g kohlensaurem Guanidin 4 bis 5 g dieser Base. Im Capillarröhrchen trocken erhitzt, beginnt es bei etwa 210° C. zu sublimiren und bei 230° C. verflüchtigt es sich grösstentheils, ohne zu schmelzen, mit Hinterlassung eines geringen, gelben Rückstandes. In Säuren löst es sich leicht auf und bildet damit gut krystallisirende, in Wasser und Alkohol sehr leicht lösliche Salze.

Das salzsaure Salz $C_6H_{11}N_5HCl$ krystallisirt in glänzenden rhombischen Säulen und Blättchen. Das Salz enthält Krystallwasser, das es jedoch schon, an der Luft getrocknet, verliert. 0.6819 g des lufttrockenen Salzes verloren, bei 110° C. getrocknet, 0.0932 g an Gewicht, entsprechend 13.6 Proc. Die Formel

$$C_6H_{11}N_5HCl\,1\tfrac{1}{2}H_2O$$

verlangt 13.4 Proc. $H_2O$. Ferner ergab das bei 110° getrocknete Salz bei der Analyse 18.34 Proc. Cl und 36.64 Proc. N. Die Formel $C_6H_{11}N_5HCl$ verlangt 18.73 Proc. Cl und 36.93 Proc. N.

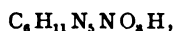
Ein schön krystallisirendes Argentonitrat der Base wird erhalten durch Erwärmen einer concentrirten wässerigen Lösung mit überschüssigem salpetersaurem Silber. Aus der heiss filtrirten Lösung krystallisirt es ziemlich vollständig aus. Das lufttrockene Salz ergab analysirt folgende Zahlen. Es wurde gefunden 33.56 Proc. Ag und 26.00 Proc. N. Die Formel $C_6H_{11}N_5NO_3Ag$ verlangt 33.45 Proc. Ag und 26.00 Proc. N.

Isopropylenguanamin. Es war für mich in mancher Hinsicht von Interesse, diese Untersuchungen auch auf das isobuttersaure Guanidin auszudehnen. Ich erwartete, und der Versuch hat die Erwartung durchaus bestätigt, die Bildung einer dem Propylenguanamin isomeren Base, deren Verschiedenheit durch den gleichen Umstand bedingt wäre, wie die Isomerie ber beiden Buttersäuren. Zu dem Zwecke wurden 280 g der käuflichen Isobuttersäure destillirt und die zwischen 151 bis 154° bei 720 mm Barometerstand siedende Fraction zur Darstellung der Base verwendet. Das isobuttersaure Guanidin wird ebenfalls am zweckmässigsten etwa eine Stunde lang auf 230° C. in einem Kolben erhitzt, hierauf die erkaltete Schmelze in der

nöthigen Menge heisser, verdünnter Salzsäure gelöst und die Base mit Natronlauge gefällt. Durch wiederholtes Umkrystallisiren aus heissem Wasser wird sie in reinem Zustande erhalten. Das Isopropylenguanamin löst sich in 48.6 Theilen siedend heissen Wassers und in 176.7 Theilen Wasser bei 18° C. In Alkohol löst es sich leichter auf, jedoch auch darin ist es schwerer löslich, als das normale Propylenguanamin. (Bei 17° C. löst sich die Isobase in 18 Theilen 90 procentigen Alkohols.) Aus der wässerigen Lösung krystallisirt es in rhombischen Krystallen, über deren Form Herr Prof. Bachmann die Freundlichkeit hatte mir Folgendes mitzutheilen. „Die Base krystallisirt in spitzen Rhomboëdern, sehr nahe stehend dem Rhomboëder des 2 R des Calcits, oder in Prismen mit beiden Rhomboëdern zum Theil in reihenförmig gruppirten Aggregaten, sehr an ähnliche Aggregate beim Quarz erinnernd." Ausser durch die Löslichkeitsverhältnisse und die Krystallform unterscheidet sich die Isobase von dem normalen Propylenguanamin noch dadurch, dass sie aus ihren Lösungen auch in starken Mineralsäuren durch Ammoniak gefällt wird. Aus 50 g kohlensauren Guanidins wurden 7 g Isopropylenguanamin erhalten. Die Analysen der freien Base ergaben folgende Zahlen:

| Versuch: | | Theorie: | |
|---|---|---|---|
| C | 46.71 Proc. | $C_6$ | 47.05 Proc. |
| H | 7.22 „ | $H_{11}$ | 7.18 „ |
| N | 46.10 „ | $N_5$ | 45.77 „ |

Das salpetersaure Salz des Isopropylenguanamins

$$C_6H_{11}N_5NO_3H,$$

erhalten durch Auflösen der Base in verdünnter, warmer Salpetersäure, krystallisirte beim Erkalten in kleinen, aus concentrischen Nadeln bestehenden Drusen. Das zur Analyse verwendete Präparat wurde aus absolutem Alkohol auskrystallisirt und ergab folgende Zahlen:

| Versuch: | | Theorie: | |
|---|---|---|---|
| C | 32.80 Proc. | $C_6$ | 33.33 Proc. |
| H | 5.37 „ | $H_{12}$ | 5.55 „ |
| N | 38.94 „ | $N_6$ | 38.88 „ |
| | | $O_3$ | 22.22 „ |

Das Argentonitrat $C_6H_{11}N_5NO_3Ag$ ist in Wasser leichter löslich, als wie das des normalen Propylenguanamins und wird durch Auflösen der Base in der äquivalenten Menge einer wässerigen Lösung von salpetersaurem Silber erhalten. Es krystallisirt beim Stehen des Filtrates über $SO_4H_2$ in prismatischen Krystallen. Bei der Analyse des lufttrockenen Salzes wurde gefunden: 33.70 Proc. Ag und 25.56 Proc. N. Nach der obigen Formel berechnet: Ag 33.45 Proc. und N 26.00 Proc.

# Ueber die Spaltungsproducte des Aceto- (Methylen-) Guanamins

von

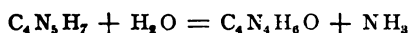
**M. Nencki.**

Ber. 9, 232. (Eingegangen am 14. Februar; verlesen in der Sitzung von Herrn Oppenheim.)

Um die Beziehung der Guanamine zu anderen, dem System eingereihten, gut charakterisirten Körpern festzustellen und ihre Constitution zu erforschen, wurde zunächst das Verhalten des Formoguanamins gegenüber oxydirenden Agentien geprüft. Die dabei gesammelten Erfahrungen waren jedoch nicht geeignet, einen Aufschluss über die Constitution dieser Verbindung zu geben. Das gegen Säuren und Alkalien sehr beständige Formoguanamin wurde entweder davon nicht angegriffen, oder bei anhaltender Einwirkung der oxydirenden Substanz vollständig zerstört. Mit concentrirter Schwefelsäure kann Formoguanamin mehrere Stunden bis auf 200° C. erhitzt werden, ohne ganz verändert zu sein. Wurde das Erhitzen so lange fortgesetzt, bis eine herausgenommene Probe mit verdünnter Natronlauge keine Fällung von unverändertem Formoguanamin mehr gab, so konnte aus der schwefelsauren Lösung ausser $NH_3$ kein anderes Spaltungsproduct isolirt werden. Ebenso verhielt sich die Base gegen concentrirte Kalilauge oder Barytlösung. Anhaltend damit gekocht, zerfällt sie vollständig in $CO_2$ und $NH_3$. Chlor und Brom wirken bei gewöhnlicher Temperatur auf Formoguanamin nicht ein, oder zerstören es bei erhöhter Temperatur und längerer Behandlung gänzlich. Durchaus andere Resultate wurden dagegen mit dem Acetoguanamin erhalten. Ich konnte hier zwischen dem Acetoguanamin und dessen letztem Spaltungsproducte — der Cyanursäure — mehrere Zwischenproducte erhalten, deren Zusammensetzung und Verhalten gegen Oxydationsmittel ein helles Licht auf die molekulare Structur der Guanamine, namentlich aber auf ihre Beziehung zu der Cyanursäuregruppe wirft.

## Das Guanid, $C_4N_4H_6O$.

Dieser Körper wird aus dem Acetoguanamin durch Einwirkung concentrirter Alkalien nach der Gleichung:

$$C_4N_5H_7 + H_2O = C_4N_4H_6O + NH_3$$

gebildet. Zu seiner Darstellung wird am zweckmässigsten 1 Theil der Base mit 2 Theilen Aetzkali, das in 4 Theilen Wasser gelöst worden, am Rückflusskühler etwa 1½ Stunden gekocht. Nach dem Erkalten erstarrt die Flüssigkeit zu einem Krystallbrei,

der die Kaliverbindung des neuen Körpers ist. Man verdünnt mit Wassei fällt mit Essigsäure. Das Guanidin scheidet sich als ein kreideweisser, krystallin Niederschlag aus. Rein wird die Substanz erhalten, indem man durch Auflös der nöthigen Quantität Salzsäure das salzsaure Salz mit essigsaurem Kali ze Die Ausbeute ist stets sehr reichlich. Man erhält aus 10 g Guanamin 8 g der : Verbindung. Die Analysen der über Schwefelsäure getrockneten Substanz er; folgende Zahlen:

| Versuch: | | | Theorie: | |
|---|---|---|---|---|
| C | 38.27 | Proc. | $C_4$ | 38.09 |
| H | 4.94 | " | $H_6$ | 4.76 |
| N | 44.29 | " | $N_4$ | 44.44 |
| | | | O | 12.70 |

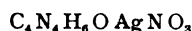
Dies Guanid ist in Wasser, Alkohol, verdünnter Essigsäure und $NH_3$ s wie unlöslich, leicht löslich in Mineralsäuren, womit es leicht lösliche, krystallisi Salze bildet. In fixen Alkalien ist es ebenfalls leicht löslich und giebt mit Alkalihydrat in Wasser leicht, in Alkohol wenig lösliche Verbindungen. Es er daher in seinem chemischen Verhalten an das Guanin, das man sich als Guan dem ein Wasserstoff durch CN ersetzt wird, denken kann.

Das salzsaure Salz $C_4N_4H_6OHCl$ krystallisirt beim Erkalten aus einer Aufl der Base in wenig reiner, heisser Salzsäure in rhombischen Nadeln. Das Salz er 21.23 Proc. Chlor, die obige Formel verlangt 21.43 Proc. Cl.

Die oben erwähnte Verbindung mit Kalihydrat hat die Zusammense $(C_4N_4H_6OKOH)_2\ 1^1/_2 H_2O$. Das Salz, bei 110° getrocknet, verlor 6.82 Wasser und enthielt 21.58 Proc. K. Kalium; berechnet für $C_4N_4H_6OI$ = 21.47 Proc.

Das durch Auflösen des Guanidins in Natronlauge und Eindampfen auf Wasserbade erhaltene Natronsalz hat die Zusammensetzung $C_4N_4H_4ONaOH$. Nach der Formel berechnet 12.5 Proc. Na, gefunden 12.6 Proc.

Eine Auflösung des Guanidins in Salpetersäure giebt mit salpetersaurem ! versetzt einen krystallinischen Niederschlag, der, an der Luft getrocknet, 36.14 Ag enthielt. Die Formel

$$C_4N_4H_6O\,AgNO_3$$

verlangt 36.47 Proc. Ag.

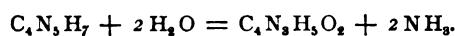
## Das Guanamid, $C_4N_3H_5O_2$.

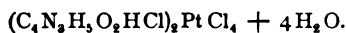
Ein Theil Acetoguanamin wird unter Temperaturerhöhung von zwei Tl concentrirter Schwefelsäure gelöst. Erwärmt man dann auf dem Sandbade bi 150° C., so findet eine lebhafte Einwirkung statt, wobei die Temperatur bis auf steigt. Man entfernt die Flüssigkeit von dem Sandbade und versetzt die erk Masse mit kaltem absolutem Alkohol, wodurch ein voluminöser Niederschlag ent Derselbe wird abfiltrirt, auf Fliesspapier getrocknet, dann in Wasser gelöst un Schwefelsäure mit essigsaurem Blei ausgefällt, im Filtrate das Blei durch $H_2S$ ent und das Filtrat zur Trockne verdampft. Der Rückstand, mit reiner concent

Salzsäure versetzt, erstarrt zu einem Krystallbrei von weissen Nadeln, die, abfiltrirt und nach dem Trocknen über Schwefelsäure analysirt, mit der Formel $C_4N_3H_5O_2$ HCl übereinstimmende Zahlen ergaben:

| Es wurde gefunden: | | berechnet: | |
|---|---|---|---|
| C | 29.34 Proc. | $C_4$ | 29.35 |
| H | 4.01 „ | $H_5$ | 3.67 |
| N | 25.26 „ | $N_3$ | 25.69 |
| Cl | 21.38 „ | Cl | 21.70 |
| | | $O_2$ | 28.59 |

Die Entstehung dieser Verbindung, die ich Guanamid nenne, erfolgt nach der Gleichung:

$$C_4N_5H_7 + 2H_2O = C_4N_3H_5O_2 + 2NH_3.$$

Das Guanamid ist in Wasser sehr leicht löslich, ebenso in Säuren und Alkalien, nur wenig löslich in Alkohol und krystallisirt aus einer heissen, alkoholischen Lösung in kleinen, rhombischen Nadeln. Die Ausbeute von Guanamid ist nicht gross, man erhält nur 20 Proc. der theoretisch berechneten Menge. Ein schön krystallisirendes Platinsalz dieser Verbindung wird erhalten durch Vermischen einer concentrirten wässerigen Lösung des salzsauren Salzes mit überschüssiger, alkoholischer Platinchloridlösung. Beim Verdunsten über Schwefelsäure im Exsiccator krystallisirt das Chloroplatinat in gelben Drusen, die aus concentrischen Nadeln bestehen. Das Salz hat die Zusammensetzung:

$$(C_4N_3H_5O_2HCl)_2PtCl_4 + 4H_2O.$$

0.3148 g des über Schwefelsäure bis zu constantem Gewichte getrockneten Salzes verloren im Luftbade bei 110° 0.0314 g $H_2O$ oder 9.97 Proc. $H_2O$. Die obige Formel verlangt 9.74 Proc. $H_2O$. Ferner enthielten 0.2834 g des bei 110° getrockneten Salzes 0.0832 g Pt oder 29.33 Proc. Die Formel

$$(C_4N_3H_5O_2HCl)_2PtCl_4$$

verlangt 29.63 Proc. Pt. Wird Guanamid mit dem 5- bis 6fachen Gewichte Salpetersäure von 1.3 spec. Gew. gelöst, so tritt beim gelinden Erwärmen eine heftige Reaction ein. Nach dem Erkalten krystallisirt reine Cyanursäure aus, durch Wasserzusatz scheidet sich noch mehr davon ab. Das auf dem Filter ausgewaschene und einmal aus heissem Wasser umkrystallisirte Product ergab folgende Zahlen:

| Es wurde gefunden: | | Die Formel $C_3N_3O_3H_3$ verlangt: | |
|---|---|---|---|
| C | 27.61 Proc. | C | 27.91 Proc. |
| H | 2.76 „ | H | 2.33 „ |
| N | 31.86 „ | N | 32.5 „ |
| | | O | 37.26 „ |

Dass diese Substanz wirklich Cyanursäure ist, wurde constatirt durch die Bildung von Cyansäuredämpfen beim trockenen Erhitzen, Darstellen des charakteristischen violetten Kupfersalzes, namentlich aber durch die Darstellung des in

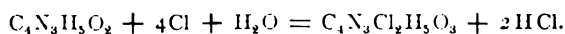
concentrirter Natronlauge unlöslichen Natriumcyanurates $C_3N_3O_3Na_3$. Diese letzte von Herrn Hofmann[1]) angegebene Reaction auf Cyanursäure muss ich auf Grund meiner Erfahrung, wo ich zum Oefteren der Cyanursäure bei der Zersetzung der Guanamine begegnete, für geringe Quantitäten als sehr empfindlich und charakteristisch bezeichnen. Die Oxydation des Guanamids durch Salpetersäure erfolgt nach folgender Gleichung:

$$C_4N_3H_5O_2 + 4O = C_3N_3H_3O_3 + CO_2 + H_2O.$$

Einwirkung von Chlor und Brom auf das Guanamid. Wird Guanamid in wenig Wasser gelöst und durch die Flüssigkeit ein langsamer Chlorstrom geleitet, so erwärmt sie sich merklich und nach kurzer Zeit scheidet sich ein glänzend weisser chlorhaltiger Körper krystallinisch ab. Die von den Krystallen abfiltrirte, stark salzsaure Lauge hinterliess eingedampft nur wenig salzsaures Guanamid. Die chlorhaltige, in kaltem Wasser unlösliche Substanz lässt sich aus vielem heissen umkrystallisiren, jedoch entwickelt die heisse Lösung einen schwachen Chloroform geruch. In verdünnter kalter Natronlauge gelöst, wird sie durch Salzsäure zum grössten Theil unverändert daraus abgeschieden. Längere Zeit mit Wasser gekocl zersetzt sich der Körper langsam, wobei der oben bezeichnete Chloroformgeruc auftritt und gleichzeitig in der Lösung Cyanursäure nachweisbar ist. Viel rasch wird die Zersetzung in obigem Sinne durch Erwärmen mit Alkalien bewirkt. Auc nascirender Wasserstoff, aus Natriumamalgam entwickelt, bildet daraus ebenfal Cyanursäure und den nach Chloroform riechenden Körper. Ich muss jedoc bemerken, dass darin durch die Isonitrilreaction kein Chloroform nachgewiese werden konnte. Auch wird zum geringen Theil durch Wasserstoff das Guanam wieder regenerirt. Die Substanz krystallisirt wasserfrei. Im Luftbade bei 11 getrocknet, verliert sie nichts an Gewicht. Bis auf 140° erhitzt, zersetzt sie sic vollständig. Zur Elementaranalyse wurden Präparate von verschiedener Darstellun herrührend verwendet und ergaben folgende Zahlen:

| 1. aus siedendem Wasser umkrystallisirt | | 2. gelöst in Kali und mit HCl gefällt | | 3. direct analysirt und nu mit kaltem $H_2O$ gewasche | |
|---|---|---|---|---|---|
| C | 23.00 Proc. | C | 23.17 Proc. | C | 22.89 Proc. |
| H | 2.79 „ | H | 2.79 „ | H | 2.83 „ |
| N | 19.76 „ | N | — | N | 19.58 „ |
| | | Cl | 31.83 „ | Cl | 32.58 „ |

Am besten stimmen die erhaltenen Zahlen auf die Formel $C_4N_3Cl_2H_5O$ welche C 22.43, H 2.33, N 19.16 und Cl 33.36 Proc. verlangt. Man ersieht auch, das die aus dem nicht weiter gereinigten Product erhaltenen Zahlen dieser Formel ar nächsten stehen. Die Einwirkung von Chlor auf das Guanamid wird de entsprechend durch folgende Gleichung ausgedrückt:

$$C_4N_3H_5O_2 + 4Cl + H_2O = C_4N_3Cl_2H_5O_3 + 2HCl.$$

[1]) Ber. **3**, 771.

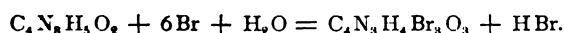
Die Zersetzung aber dieses Körpers, den ich Bichlorguanamidin nennen will, durch Alkalien erfolgt wahrscheinlich nach folgender Gleichung:

$$C_4 N_3 Cl_2 H_5 O_3 = C_3 N_3 O_3 H_3 + C H_2 Cl_2.$$

Wird zu einer auf dem Wasserbade gelinde erwärmten wässerigen Guanamidlösung Brom allmählich zugesetzt, so verschwindet das Brom augenblicklich, und sobald kein Brom mehr aufgenommen wird, scheidet sich in mikroskopischen Krystallen ein neues, bromhaltiges Product aus, das in heissem und kaltem Wasser, Alkohol und Aether vollständig unlöslich ist und mit Wasser gekocht rasch in Bromoform und Cyanursäure zerfällt. Die letzte Beobachtung machte es sehr wahrscheinlich, dass auch das directe, durch Einwirkung von Brom auf das Guanamid erhaltene Product nicht ganz frei von Cyanursäure sein würde. Zur Elementaranalyse wurden zwei von verschiedener Darstellung herrührende Präparate verwendet und zwar wurde das Präparat Nr. 1 mit warmem, das Nr. 2 nur mit kaltem Wasser ausgewaschen. Es wurden folgende Zahlen erhalten:

| | 1. | | | 2. | |
|---|---|---|---|---|---|
| C | 13.75 | Proc. | C | 13.43 | Proc. |
| H | 1.52 | „ | H | 1.49 | „ |
| Br | 61.03 | „ | Br | 61.08 | „ |
| | | | N | 10.89 | „ |

Die erhaltenen Zahlen stimmen unter einander und am nächsten auf die Formel $C_4 N_2 Br_2 O_2$, welche 13.89 Proc. C, 1.16 Proc. H, 10.81 Proc. N und 61.79 Proc. Br verlangt. Wahrscheinlicher ist es mir jedoch, namentlich auf Grund der Zersetzung mit heissem Wasser, dass die gebromte Substanz etwas Cyanursäure enthält, und dass ihre richtige Zusammensetzung durch die Formel $C_4 N_3 Br_3 O_3 H_4$, welche 12.57 Proc. C, 1.05 Proc. H, 10.99 Proc. N und 62.7 Proc. Br verlangt, ausgedrückt wird. Die grosse Zersetzbarkeit dieser Substanz jedoch macht die Entscheidung der Frage auf analytischem Wege unmöglich. Ihre Entstehung aus dem Guanamid würde der des Bichlorguanamidins analog sein, mit dem Unterschiede, dass ein Wasserstoff mehr durch Brom ersetzt werde:

$$C_4 N_3 H_5 O_2 + 6 Br + H_2O = C_4 N_3 H_4 Br_3 O_3 + H Br.$$

Wie schon erwähnt, zerfällt diese Substanz, die man als Tribromguanamidin bezeichnen könnte, mit Wasser gekocht, leicht in Cyanursäure und Bromoform. Das erhaltene Bromoform wurde durch Erwärmen mit Anilin und alkoholischem Kali durch die Isonitrilbildung charakterisirt, und die Cyanursäure als solche durch die oben erwähnten Reactionen erkannt. Zum Ueberfluss wurde noch eine Elementaranalyse ausgeführt und ergab folgende Zahlen:

| Versuch: | | | Theorie: | | |
|---|---|---|---|---|---|
| C | 27.98 | Proc. | $C_3$ | 27.91 | Proc. |
| H | 2.52 | „ | $H_3$ | 2.33 | „ |
| | | | $N_3$ | 32.51 | „ |
| | | | $O_3$ | 37.26 | „ |

## Bichlorguanamin.

Aus einer wässerigen, heiss gesättigten Lösung scheidet sich das Acetogu zum grössten Theil wieder aus. Wird dann die Masse mit so viel Wasser v dass sie nur einen dünnen Brei bildet, und einem langsamen Chlorstrome aus so nimmt die Flüssigkeit Anfangs eine dickliche Consistenz an, die beim fortg Durchleiten wieder verschwindet, während sich ein körniger Niederschlag zu setzt. Dieser Niederschlag, abfiltrirt, mit kaltem Wasser bis zum Verschwin sauren Reaction im Filtrate ausgewaschen, zunächst auf Fliesspapier, dan Schwefelsäure bis zu constantem Gewicht getrocknet, ergab, mit $PbCrO_4$ ve folgende Zahlen:

| Es wurde gefunden: | | | Die Formel $C_4N_5H_5Cl_2$ verlan | | |
|---|---|---|---|---|---|
| C | 24.70 | Proc. | C | 24.74 | Proc. |
| H | 2.81 | „ | H | 2.58 | „ |
| N | 36.61 | „ | N | 36.08 | „ |
| Cl | 37.02 | „ | Cl | 36.59 | „ |

Der in Wasser gänzlich unlösliche Körper löst sich sehr leicht in Alkal kann daraus, jedoch nicht ohne theilweise Zersetzung, durch Zusatz von Sal Essigsäure abgeschieden werden. Mit verdünnter Salzsäure erwärmt, löst darin auf, wobei gleichzeitig Chlor in Strömen entweicht, und aus der klare sauren Lösung fällt durch Zusatz von Natron oder Ammoniak ein schwer l krystallinischer Körper aus, der, wenn mit Ammoniak gefällt, unter dem Mi durch seine dendritisch verwachsenen Krystallformen dem Salmiak täuschend erscheint. Die gefällte Substanz besitzt, obgleich in sehr abgeschwächtem noch immer basische Eigenschaften, indem sie in Mineralsäuren sehr leicht lö und auch von concentrirten, organischen Säuren gelöst wird; jedoch beim Eind auch aus der oxalsauren Lösung, sich unverändert abscheidet. Wie schon e wird sie aus den sauren Lösungen durch Alkalien gefällt. Am besten wird s Umkrystallisiren aus verdünnter, heisser Essigsäure gereinigt, woraus sie si Erkalten in schönen, rhombischen Nadeln abscheidet. Ueber Schwefelsäure get ergab sie bei der Verbrennung folgende Zahlen:

| Es wurde gefunden: | | | Nach der Formel $C_4N_5H_5Cl_2$ bere | | |
|---|---|---|---|---|---|
| C | 24.99 | Proc. | C | 24.74 | Proc. |
| H | 2.88 | „ | H | 2.58 | „ |
| N | 30.25 | „ | N | 36.09 | „ |
| Cl | 36.51 | „ | Cl | 36.59 | „ |

Ein Platinsalz dieser gechlorten Base wurde erhalten durch Auflösen der S in möglichst wenig, mit Salzsäure angesäuertem Alkohol, Vermischen der mit concentrirtem, alkoholischem Platinchlorid und Verdunsten im Exsiccato auskrystallisirte Salz, durch Waschen mit wasserfreiem Aether von übersch $PtCl_4$ befreit, über $SO_4H_2$ und Aetzkalk bis zu constantem Gewichte get enthielt 24.80 Proc. Pt.

Die Formel $(C_4H_5Cl_2N_5)_2\,2HCl\,PtCl_4$ verlangt 24.65 Proc. Pt. Beim der Base in einer warmen, überschüssigen Lösung von salpetersaurem Silber kry

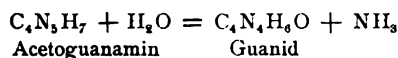
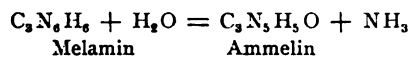
nach dem Erkalten ein Argentonitrat von der Zusammensetzung $C_4 N_5 H_5 Cl_2 N O_3$ Ag. Das lufttrockene Salz enthält 29.67 Ag, die obige Formel verlangt 29.90 Proc. Ag. Man ersieht, dass hier ein merkwürdiger Fall von Isomerie oder wahrscheinlicher Polymerie vorliegt. Das ursprünglich durch Einwirkung von Chlor auf Guanamin erhaltene Product besitzt entschieden saure Eigenschaften und geht durch Einwirkung von Säure in einen basischen Körper von gleicher Zusammensetzung über, welcher letztere jedenfalls als das Guanamin, in welchem die zwei Methylenwasserstoffe durch $Cl_2$ ersetzt sind, zu betrachten ist.

Wird Acetoguanamin sehr lange der Chloreinwirkung ausgesetzt, so ist die Ausbeute an dem ursprünglichen, unlöslichen Chlorproduct geringer; dagegen findet sich in der abfiltrirten, stark salzsauren Lauge neben Acetoguanamin und Ammoniak auch das basische Bichlorguanamin gelöst. Die gleiche Zersetzung des ursprünglichen Productes wird ebenso, wie durch Salzsäure, durch Schwefel- oder verdünnte Salpetersäure bewirkt. Merkwürdigerweise entwickelt das Rohproduct, mit Bromwasserstoffsäure erwärmt, Brom, so dass eine Zersetzung der Wasserstoffsäure dabei stattzufinden scheint. Man erhält etwa die Hälfte Bichlorguanamin von dem Gewichte des ursprünglichen Productes. Hoffentlich wird die fortgesetzte Untersuchung der zahlreichen Derivate des Acetoguanamins, deren Reihe hiermit noch nicht abgeschlossen ist, auch über diesen Punkt befriedigende Aufklärung verschaffen.

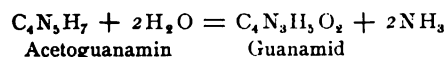
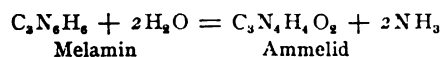
Zum Schluss möchte ich noch die Analogie hervorheben, welche in der Zersetzung des Acetoguanamins und des Melamins durch Säuren und Alkalien besteht.

So giebt mit Kali gekocht:

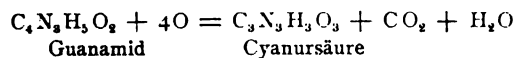
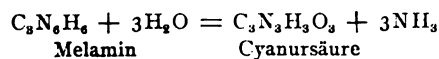
$$\underset{\text{Melamin}}{C_3N_6H_6} + H_2O = \underset{\text{Ammelin}}{C_3N_5H_5O} + NH_3$$

$$\underset{\text{Acetoguanamin}}{C_4N_5H_7} + H_2O = \underset{\text{Guanid}}{C_4N_4H_6O} + NH_3$$

ferner mit $S O_4 H_2$ erwärmt:

$$\underset{\text{Melamin}}{C_3N_6H_6} + 2H_2O = \underset{\text{Ammelid}}{C_3N_4H_4O_2} + 2NH_3$$

$$\underset{\text{Acetoguanamin}}{C_4N_5H_7} + 2H_2O = \underset{\text{Guanamid}}{C_4N_3H_5O_2} + 2NH_3$$

und bei weiterer Oxydation:

$$\underset{\text{Melamin}}{C_3N_6H_6} + 3H_2O = \underset{\text{Cyanursäure}}{C_3N_3H_3O_3} + 3NH_3$$

$$\underset{\text{Guanamid}}{C_4N_3H_5O_2} + 4O = \underset{\text{Cyanursäure}}{C_3N_3H_3O_3} + CO_2 + H_2O$$

Auch bei dieser Untersuchung hatte ich das Vergnügen, von Herrn J. H. Jäger unterstützt zu werden, und benutze die Gelegenheit an dieser Stelle, ihm dafür meinen aufrichtigen Dank auszusprechen.

# Ueber die Condensationsproducte des valeriansauren und capronsauren Guanidins

von

**E. Bandrowski.**

Ber. 9, 240. (Eingegangen am 14. Febr. 1876; ve lesen in der Sitzung von Herrn Oppenheim.)

Das Verhalten des ameisensauren und essigsauren Guanidins in der Hitze lie auch in den höheren fettsauren Salzen eine Analogie erwarten. Die darauf bezügliche Versuche habe ich auf Wunsch von Prof. Nencki übernommen und erzielte dab folgende Resultate.

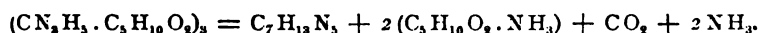
## 1. Butylenguanamin.

Je 50 g kohlensauren Guanidins, in Wasser gelöst, wurden mit der en sprechenden Menge Valeriansäure (aus Gährungsamylalkohol bereitet) neutralisi die Lösung in einer Porcellanschale verdampft und die weisse, fest gewordene Mas in einem Kölbchen $1^1/_2$ bis 2 Stunden bei 220 bis 230° C. erhitzt. Diese Temperat stellte sich als die der Reaction am meisten günstige heraus. Das Eintreten un Dauern der Reaction deuten reichlich sich entwickelnde und nach Ammoniak sta riechende Dämpfe an. Nach dem Erkalten wurde die Masse in verdünnter Salzsäu gelöst. Das Abheben der dabei in verhältnissmässig beträchtlicher Menge abg schiedenen Valeriansäure erwies sich als unzweckmässig, da selbe ziemlich viel d Base in Form des valeriansauren Salzes in Lösung enthält. Es wurde deshalb d Flüssigkeit direct mit einem Ueberschusse von Natronlauge versetzt. So lange d Lösung sauer reagirt, entsteht ein amorpher Niederschlag, der aber beim weitere Zusatz der Lauge verschwindet. Beim Erkalten scheidet sich langsam die Base i rhombischen Nadeln aus, und wenn die Operation gut gelungen war, erstarrte d Flüssigkeit zu einem dicklichen Krystallbrei. Der Niederschlag wird auf dem Filt gesammelt, mit Wasser bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction gewasche auf Fliesspapier getrocknet und aus heissem Wasser umkrystallisirt. Aus de abfiltrirten Laugen kann noch etwas von der Base gewonnen werden.

Die so gereinigte Base krystallisirt in glänzenden, weissen Nadeln des rhon bischen Systems, die namentlich beim raschen Abkühlen radialstrahlig oder län der Hauptaxe zusammengewachsen erscheinen. In kaltem Wasser ist sie ziemlic schwer löslich, viel leichter in heissem, sehr leicht löslich in Alkohol und Aeth Der Schmelzpunkt lag jedesmal bei 172 bis 173° (uncorr.) und der Erstarrung punkt bei 127°. Schon bei 100° sublimirte sie theilweise. Die Krystalle sind wasse frei. Bei der Verbrennung erhielt ich folgende Zahlen:

| Gefunden: | Berechnet für $C_7H_{13}N_5$: |
|---|---|
| C 49.96 | C 50.29 |
| H 8.18 | H 7.78 |
| N 41.88 | N 41.91 |

Demzufolge ist der erhaltene Körper ein weiterer Homologe des von Prof. Nencki entdeckten Formo- und Methylenguanamins. Die Zersetzung des valeriansauren Guanidins verlief also nach der Gleichung:

$$(CN_3H_5 \, . \, C_5H_{10}O_2)_3 = C_7H_{13}N_5 + 2\,(C_5H_{10}O_2 \, . \, NH_3) + CO_2 + 2\,NH_3.$$

Daneben scheint die Reaction, gerade wie beim Erhitzen des essigsauren Guanidins, in etwas anderer Richtung zu gehen. Wird nämlich das Reactionsproduct nach beendetem Erhitzen und Erkalten nur in Wasser gelöst, so bleibt auf dem Filter ein in Wasser vollständig unlöslicher und amorpher Rückstand. Der fragliche Körper löst sich in NaHO und starken Mineralsäuren, wird jedoch durch organische Säuren gefällt. Dieses Verhalten erklärt auch die erst beim Eintreten der alkalischen Reaction verschwindende Fällung, wenn man das in verdünnter Salzsäure gelöste Reactionsproduct mit Natronlauge behandelt.

Was die Ausbeute anbetrifft, so würde man sie schwerlich als günstig betrachten. Wenigstens ist sie im Vergleiche mit der von Methylenguanamin bedeutend kleiner. Es gelang mir nie trotz der verschiedenst angestellten Versuche, die Ausbeute über 4 bis 5 g aus 50 g kohlensauren Guanidins zu erhöhen.

Der neue Körper ist eine sehr schwache Base, vermag deshalb nur mit starken Mineralsäuren Salze zu liefern. Das essigsaure Salz, das aus concentrirter Lösung in feinen, büschelförmig vereinigten Nadeln krystallisirt, zersetzt sich schon an der Luft, was man an dem starken Essigsäuregeruch wahrnehmen konnte. Ueber einige andere Salze will ich Folgendes mittheilen.

Das salzsaure Salz $C_7H_{13}N_5 \, . \, HCl$ scheidet sich aus stark concentrirten Lösungen in schön ausgebildeten, lebhaft glänzenden, oft radialstrahlig geordneten Nadeln ab, die äusserst leicht in Wasser löslich sind. Die Chlorbestimmung ergab:

| Gefunden: | Berechnet für $C_7H_{13}N_5HCl$: |
|---|---|
| 17.08 Proc. | 17.44 Proc. |

Das schwefelsaure Salz $C_7H_{13}N_5 \, . \, H_2SO_4$ krystallisirt aus concentrirter Lösung in kleinen, glänzenden Blättchen, die sich unter dem Mikroskope als aus kleinen Nadeln zusammengesetzte Aggregate erwiesen. Das Salz ist wasserfrei. Die Analyse ergab:

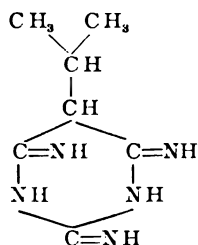
| Gefunden: | Berechnet für $C_7H_{13}N_5H_2SO_4$: |
|---|---|
| 18.15 Proc. $SO_3$ | 18.53 Proc. $SO_3$. |

Das Silberdoppelsalz $C_7H_{13}N_5 \, . \, AgNO_3$ wurde erhalten durch Erwärmen und nachheriges Filtriren einer wässerigen Lösung äquivalenter Mengen der Base und salpetersauren Silbers und krystallisirt beim Erkalten in zarten, glitzernden Nadeln, die in Wasser sehr schwer löslich sind und kein Krystallwasser enthalten. Am Lichte bräunen sie sich. Die analytischen Zahlen sind:

| Gefunden: | Berechnet für $C_7H_{13}N_5 \, . \, AgNO_3$: |
|---|---|
| C — | C 24.92 |
| H — | H 3.86 |
| N 24.52 | N 24.92 |
| Ag 31.94 | Ag 32.04 |
| | O 14.26 |

Da zufolge der gefundenen Thatsachen die Base dem Methylenguanam
ist, so muss auch ihre Constitution eine analoge sein und der Untersch
dem in der Base vorhandenen Kohlenwasserstoffreste $C_4H_8$ beruhen. S
als Butylenguanamin zu betrachten. In der That zeigten weitere Versuc
Base auch beim Behandeln mit concentrirter Schwefelsäure, Einwirkung
Brom etc. sich ganz analog verhält. Es gelang mir, aus der durch
concentrirter Schwefelsäure auf die Base entstehenden Masse mit Ge
Product zu isoliren, welches zufolge der bei der Verbrennung des Pr
solchen oder als salzsauren Salzes erhaltenen Zahlen durch die Formel (
auszudrücken und demgemäss als Butylenguanamid zu bezeichnen wä
stellte es sich heraus, dass der Körper $C_7H_{11}N_3O_2$ mit Salpetersäure (
eine Säure liefert, die durch ihr Verhalten, namentlich durch Ausst
Cyansäuredämpfe beim Erhitzen an Platinblech, durch die Bildung d
schüssiger Natronlauge unlöslichen Natronsalzes und zuletzt durch di
schön geformten Krystalle, die sie mit einer ammoniakalischen Kupfer
gab, unzweifelhaft als Cyanursäure charakterisirt wurde. Die Ox
Butylenguanamins vollzieht sich also im Wesentlichen auf gleiche Weise
Methylenguanamins. Als bemerkenswerthen Unterschied hebe ich den star
lichen Geruch hervor, der sich beim Versetzen des Oxydationsproductes mit
entwickelte und unzweifelhaft das Vorhandensein eines Isonitrils — wal
des Butylisonitrils — andeutete. Diese Thatsache ermangelt bis jetzt einer

Die Constitution des Butylenguanamins wäre also analog de
Homologen ausgedrückt durch die Formel

```
 CH3  CH3
    \/
    CH
    |
    CH
   /  \
C=NH   C=NH
|      |
NH     NH
  \   /
  C=NH
```

Ich bin mit dem eingehenderen Studium der Oxydationsproducte w
schiedenen Chlor- und Bromderivate beschäftigt. Hier will ich noch
dass durch Vertretung eines Wasserstoffs durch Brom im Butylenguanamid (
und Ersetzen des Broms durch CN mittelst AgCN ein dem Theïn wal
isomerer Körper erhalten werden kann.

### 2. Amylenguanamin $C_8H_{15}N_5$.

Die zu diesen Versuchen nöthige Capronsäure wurde von C. A. F. K
als „Capronsäure erhalten durch Gährung" bezogen. Da von vornher
Reinheit der Säure zu zweifeln war, so unterwarf ich sie einer einmaligen
Die Säure siedete von 192 bis 205°. Zur Darstellung des Amylenguanar
die bei 192 bis 200° übergehende Fraction angewandt. Die Reaction v
unter genau gleichen Bedingungen und Erscheinungen wie beim Butyle

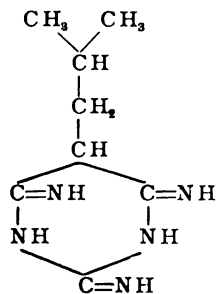
Der durch Natronlauge gefällte Körper liess sich jedoch durch Umkrystallisiren nicht rein erhalten. Es wurde deshalb die ganze Menge der unreinen Base in verdünnter Salzsäure gelöst, die Lösung filtrirt und stark eingeengt. Die Flüssigkeit wird beim langsamen Erkalten von prachtvoll ausgebildeten flachen Nadeln durchsetzt, welche abfiltrirt und auf Fliesspapier getrocknet wurden. In den Laugen schieden sich nach längerem Stehen kleine, drusig zusammengewachsene, weisse Krystalle ab, welche nicht weiter untersucht wurden. — Die zuerst abgeschiedenen Krystalle, noch einmal aus Wasser umkrystallisirt, stellen weisse, perlmutterglänzende, manchmal 1 bis 2 mm lange Säulen dar und bilden überhaupt eins der schönsten Guanaminsalze. Sie sind äusserst leicht löslich in Wasser. Die Analyse ergab folgende Zahlen:

| Gefunden: | Berechnet für $C_8H_{15}N_5HCl$: |
|---|---|
| C 43.81 | C 44.13 |
| H 7.87 | H 7.36 |
| N 31.61 | N 32.17 |
| Cl 16.17 | Cl 16.32 |

Diese Zahlen liessen keinen Zweifel, dass man es mit dem salzsauren Salze des Amylenguanamins zu thun hatte. Es wurde deshalb das Salz, um die freie Base darzustellen, in Wasser gelöst und mit Natronlauge gefällt. Es setzte sich ein blendend weisser Niederschlag zu Boden, der nach vollständigem Auswaschen aus heissem Wasser umkrystallisirt wurde. Die Base scheidet sich langsam ohne jede Trübung in weissen Krystallen ab. Getrocknet bei 100° ergaben diese bei der Verbrennung folgende Zahlen:

| Gefunden: | Berechnet für $C_8H_{15}N_5$: |
|---|---|
| C 53.19 | C 53.04 |
| H 8.49 | H 8.28 |

Aus diesen Zahlen ergiebt sich die Reinheit der Base, welche aus kleinen, glitzernden Krystallen besteht, die unter dem Mikroskop als wohl ausgebildete, quadratische Pyramiden, zum Theil mit einer Basisfläche abgestumpft erscheinen. Manchmal sind die Krystalle dendritartig verwachsen und erinnern alsdann lebhaft an Salmiakkrystallisationen. Oft bilden sich auch Zwillinge. Sie sind wasserfrei, sehr schwer löslich in Wasser, dagegen leicht in Alkohol. Der Schmelzpunkt lag jedesmal bei 177 bis 178° (uncorr.). Der Erstarrungspunkt bei etwa 144°. Sonst lassen sich die der ganzen Reihe von Guanamin gemeinschaftlichen Eigenschaften auch hier wiedererkennen, so dass ihr demnach die Formel

```
 CH3   CH3
    \ /
     CH
     |
     CH2
     |
     CH
   /    \
C=NH    C=NH
|       |
NH      NH
   \    /
    C=NH
```

beigelegt werden darf.

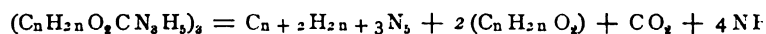
# Ueber die Constitution der Guanamine und der polymeren Cyanverbindungen

von

**M. Nencki.**

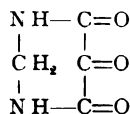
Ber. **9**, 244. (Eingegangen am 14. Februa: in der Sitzung von Herrn Oppenheim.)

Aus den vorangegangenen Mittheilungen ist ersichtlich, dass die Guan der einbasischen Fettsäuren, auf höhere Temperaturen erhitzt, eine homolog der Guanaminbasen liefern, deren Entstehung durch die allgemeine Gleichur

$$(C_nH_{2n}O_2CN_3H_5)_3 = C_{n+2}H_{2n+3}N_5 + 2(C_nH_{2n}O_2) + CO_2 + 4NH$$

ausgedrückt wird. Ebenfalls wird dadurch die früher ausgesprochene A dass das von dem Formoguanamin nur durch die $CH_2$-Gruppe verschieden guanamin thatsächlich das Methylen enthalte, bestätigt.

Dagegen spricht das constante Auftreten der Cyanursäure, als d Oxydationsproduct der Guanamine, gegen die Annahme, dass die in Folge getretenen Amidogruppen bei der Condensation des Guanidins freigew Kohlenstoffvalenzen sich gegenseitig binden. Wäre diese Annahme richtig, s das Acetoguanamin bei fortgesetzter Oxydation nicht Cyanursäure und Koh sondern substituirte Harnstoffe liefern.

Ich habe in der That erwartet, aus dem Guanamid durch Ersetzen nc NH-Restes durch O einen der Barbitursäure isomeren Körper, etwa von f Structur:

```
NH—C=O
|    |
CH₂  C=O
|    |
NH—C=O
```

zu erhalten.

Indessen lässt das Auftreten der Cyanursäure beim Behandeln des Gu mit Salpetersäure und beim Kochen des gechlorten oder des gebromten l des letzteren mit Wasser keinen Zweifel, dass in den Guanaminen die Ve der drei von dem Guanidin herrührenden Kohlenstoffatome nicht durch di seitige Bindung der Kohlenstoffvalenzen, sondern durch die NH-Reste g Danach scheint mir die folgende Structur die wahrscheinlichste dieser Basen

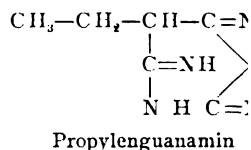
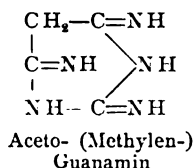
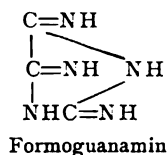
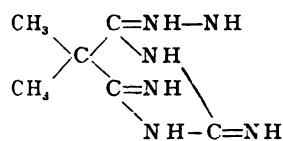
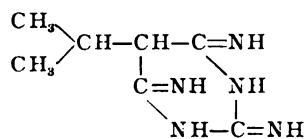
```
C=NH              CH₂—C=NH            CH₃—CH₂—CH—C=N
|                 |                           |
C=NH   NH         C=NH   >NH                  C=NH   >
|                 |                           |
NHC=NH            NH-- C=NH                   N H  C=
```

Formoguanamin — Aceto- (Methylen-) Guanamin — Propylenguanamin

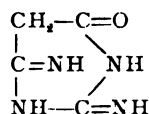
[1]) Ber. **7**, 1592.

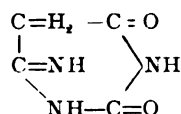
```
CH3     C=NH—NH
   \C/   \NH
   /  \     \
CH3     C=NH \
           \  \
            NH-C=NH
```

Isopropylenguanamin

```
CH3\
    >CH—CH—C=NH
CH3/     |    \
         C=NH  NH
           \   |
            NH—C=NH
```

Butylenguanamin
(aus Gährungsvaleriansäure u. s. w.)

Das aus dem Methylenguanamin entstehende Guanid würde folgende Structur haben:

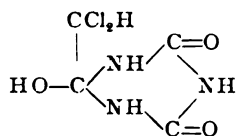
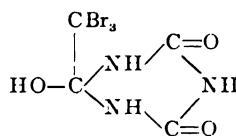
```
CH2—C=O
|    \
C=NH  NH
|    /
NH—C=NH
```

Das Guanamid aber folgende:

```
C=H2  —C=O
|        \
C=NH      >NH
  \      /
   NH—C=O
```

Die Entstehung des Guanids und des Guanamids aus dem Methylenguanamin geschieht durch Aufnahme von einem und zwei Molekülen Wasser und Austritt von einem resp. zwei Ammoniakmolekülen. In der Regel werden Amidokörper, mit Säuren oder Alkalien behandelt, unter Aufnahme von Wasser und Abspaltung von Ammoniak in Hydroxylderivate übergeführt. Bei der Einwirkung auf Imidkörper sind aber die beiden Wasserstoffe des Wassermoleküls zur Ueberführung der NH-Gruppe in $NH_2$ erforderlich und an Stelle der Imidogruppe wird der Sauerstoff des Wassers mit seinen beiden Affinitäten an Kohlenstoff gebunden.

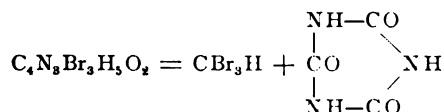
Die beiden durch Einwirkung von Chlor und Brom auf das Guanamid entstehenden Derivate haben wahrscheinlich folgende Structur:

```
     CCl2H
     |      C=O
     |  NH/   \
HO—C<          NH
        NH\   /
           C=O
```

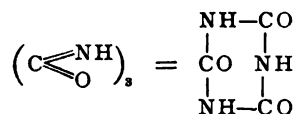
Bichlorguanamidin

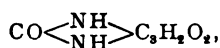
```
     CBr3
     |      C=O
     |  NH/   \
HO—C<          NH
        NH\   /
           C=O
```

Tribromguanamidin

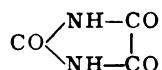
In diesen beiden Körpern wird die bis dahin geschlossene Kette unter Aufnahme von Wasser in eine offene verwandelt, und es bedarf nur einer gelinden Einwirkung, um das locker gewordene Molekül zum Zerfall in seine Componenten zu bringen. Das Tribromguanamidin, mit Wasser erwärmt, zerfällt in Bromoform und Cyanursäure, ein Vorgang, der sich durch folgendes Schema veranschaulichen lässt:

```
                             NH—CO
                             |    \
C4N3Br3H5O2 = CBr3H  +  CO    NH
                             |    /
                             NH—CO
```

Die sich hieraus ergebende Structurformel der Cyanursäure erklärt auch am einfachsten die Beziehungen dieses Körpers zur Cyansäure und überhaupt zu der

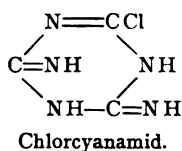
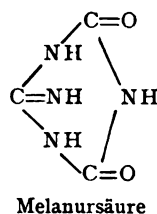
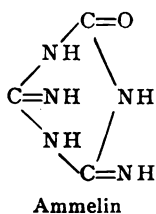
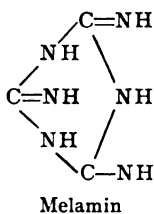
ganzen Cyangruppe. Wie alle Polymerisationen in der Cyangruppe, beruht der Uebergang der Cyansäure in Cyanursäure auf einer Verschiebung der Atome im Molekül, wie aus folgender Formel ersichtlich:

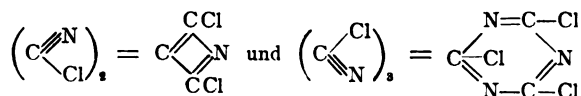
```
                     NH—CO
   /    NH\           |   |
  ( C<     )    =    CO   NH
   \    O /3          |   |
                     NH—CO
```

und es würde schwer sein, eine einfachere Vorstellung zu finden, um den Uebergang der Cyansäure in Cyanursäure und die Rückverwandlung der letzteren in Cyansäure zu erklären. Die durch Metalle vertretbaren Wasserstoffe der Cyanursäure sind die Imidowasserstoffe, ähnlich wie in der Cyansäure und den zahlreichen Derivaten der Harnsäure, wie z. B. in der zweibasischen Barbitursäure:

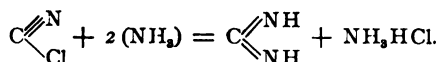
$$CO<{NH \atop NH}>C_3H_2O_2,$$

oder der Parabansäure:

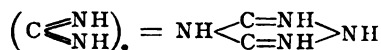
```
     NH—CO
   /      |
CO        |
   \      |
     NH—CO
```

Nach der für die Guanamine und die Cyanursäure aufgestellten Formel haben das Melamin, die Melanurensäure und das Chlorcyanamid folgende Structur:

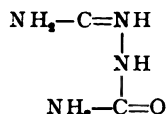
```
      C=NH              C=O               C=O
     /    \            /   \             /   \
   NH      \         NH     \          NH     \
   /        \        /       \         /       \
C=NH        NH    C=NH       NH     C=NH       NH
   \        /        \       /         \       /
   NH      /         NH     /          NH     /
     \    /            \   /             \   /
      C—NH              C=NH              C=O
  Melamin            Ammelin         Melanursäure
```

```
       N===CCl
      /       \
   C=NH        NH
      \       /
       NH—C=NH
   Chlorcyanamid.
```

Auf einer Atomverschiebung im Molekül beruht die Umwandlung des gasförmigen Chlorcyans zu flüssigem oder festem:

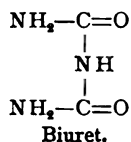
```
  /   N\          CCl              /  Cl\           N=C—Cl
 ( C≤   )   =   C<   >N    und    ( C<   )   =   C<Cl   >N
  \   Cl/2        CCl              \  ≡N/3          N—C—Cl
```

und ebenfalls seine Umwandlung durch Ammoniak in Cyanamid:

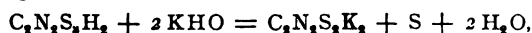
```
   N                     NH
C≤     + 2(NH3) =   C≤        + NH3HCl.
   Cl                    NH
```

Auch der Uebergang des Cyanamids in Dicyanamid ergiebt sich hieraus sehr einfach:

$$\left(C \lessgtr {NH \atop NH}\right)_2 = NH \langle {C{=}NH \atop C{=}NH} \rangle NH$$

Diese Structurformel hat bereits Herr Mulder[1]) von anderen Gesichtspunkten ausgehend für das Dicyanamid aufgestellt. Das Dicyanamid geht unter Aufnahme von Wasser in das Dicyandiamidin über, dessen Structur folgende ist[2]):

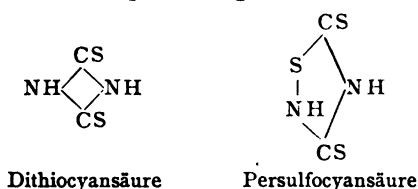
$$\begin{array}{l} NH_2{-}C{=}NH \\ \quad\quad\;\; | \\ \quad\quad\; NH \\ \quad\quad\;\; | \\ NH_2{-}C{=}O \end{array}$$

Die geschlossene Kette des Dicyanamids wird durch Aufnahme von Wasser in eine offene verwandelt und das Dicyandiamidin entspricht dem Biuret, in welchem der zweiwerthige NH-Rest einen O vertritt:

$$\begin{array}{l} NH_2{-}C{=}O \\ \quad\quad\;\; | \\ \quad\quad\; NH \\ \quad\quad\;\; | \\ NH_2{-}C{=}O \end{array}$$

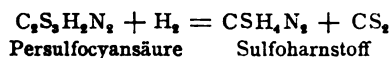
Biuret.

Ebenso einfach lässt sich von diesen Gesichtspunkten aus die Constitution der besser studirten Sulfocyanverbindungen erklären. Nach den Mittheilungen des Herrn Fleischer[3]) wird die Persulfocyansäure durch alkoholisches Kali in Dithiocyansäure und Schwefel zerlegt:

$$C_2N_2S_3H_2 + 2\,KHO = C_2N_2S_2K_2 + S + 2\,H_2O,$$

und die Structur dieser beiden Körper ist folgende:

$$NH \langle {CS \atop CS} \rangle NH \qquad\qquad \begin{array}{c} CS \\ S \quad\;\; NH \\ NH \\ CS \end{array}$$

Dithiocyansäure — Persulfocyansäure

Diese Constitutionsformel erklärt auch sehr einfach das Verhalten der Persulfosäure gegen Reductionsmittel. Glutz[4]) machte die Beobachtung, dass Persulfocyansäure durch nascirende Jodwasserstoffsäure oder Wasserstoff aus Zinn und Salzsäure im Sinne folgender Gleichung zersetzt wird:

$$C_2S_3H_2N_2 + H_2 = CSH_4N_2 + CS_2$$

Persulfocyansäure — Sulfoharnstoff

Auch die von mir und Leppert[5]) erhaltene Acetylpersulfocyansäure

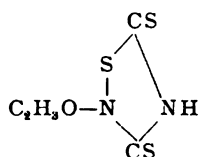
[1]) Ber. 6, 657.

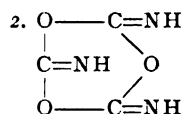
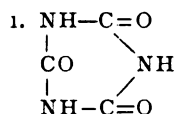
[2]) E. Baumann, Ber. 7, 1766.

[3]) Annal. Chem. Pharm. 179, 208.

[4]) Ebendaselbst 154, 41.

[5]) Ber. 6, 902. — Dieser Band S. 54.

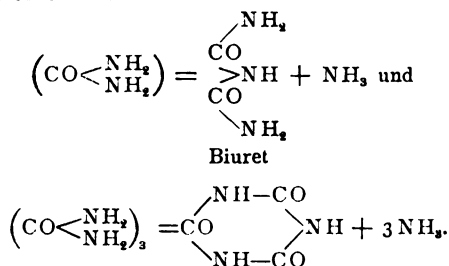
$$\begin{array}{c} CS \\ S \diagup \quad \diagdown \\ | \qquad \\ C_2H_3O-N \qquad NH \\ \diagdown \diagup \\ CS \end{array}$$

liefert mit nascirendem Wasserstoff, in saurer Lösung behandelt, ebenfalls S harnstoff. Bei dieser Reaction werden die beiden Imidoreste der Persulfocyar unter gleichzeitiger Abspaltung von Schwefelkohlenstoff in Amidogruppen wandelt. Hier ist die Bildung des Sulfoharnstoffs noch insofern interessant, a für die Annahme spricht, dass der Schwefel resp. Sauerstoff in den polymeren ( verbindungen mit beiden Affinitäten an Kohlenstoff gebunden ist, dass also voı beiden möglichen Formeln der Cyanursäure

$$1.\ \begin{array}{l} NH-C=O \\ |\qquad\ \diagdown \\ CO \qquad NH \\ |\qquad\ \diagup \\ NH-C=O \end{array} \qquad\qquad 2.\ \begin{array}{l} O\text{——}C=NH \\ |\qquad\quad \diagdown \\ C=NH \quad O \\ |\qquad\quad \diagup \\ O\text{——}C=NH \end{array}$$

die erste die wahrscheinlichere ist.

Die Entstehung der Guanamine beim Erhitzen der Guanidinsalze hat übr ihr vollkommenes Analogon in der Bildung des Biurets und der Cyanursäure Erhitzen des Harnstoffes für sich:

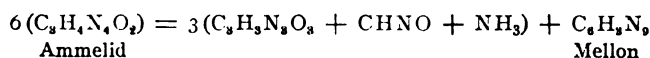
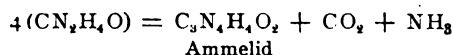
$$\left(CO<^{NH_2}_{NH_2}\right)_2 = \begin{array}{l} \diagup NH_2 \\ CO \\ \ >NH \\ CO \\ \diagdown NH_2 \end{array} + NH_3 \text{ und}$$

Biuret

$$\left(CO<^{NH_2}_{NH_2}\right)_3 = CO\begin{array}{l} \diagup NH-CO \diagdown \\ \diagdown NH-CO \diagup \end{array}NH + 3NH_3.$$

Im ersten Falle liefern zwei Amidogruppen der beiden Harnstoffmoleküle Austritt von $NH_3$ den zweiwerthigen verbindenden NH-Rest. Im zweiten werden die beiden Amidogruppen in jedem der drei Harnstoffmoleküle in NH und $NH_3$ übergeführt.

Durch weiteres Erhitzen entstehen aus dem Harnstoff das Ammelid unc Mellon. Dabei wird ausser Ammoniak noch Kohlensäure entwickelt. Wenn die Molekularformel der beiden letzteren Substanzen nicht mit Sicherheit festg ist, so ergiebt sich doch aus den von Laurent und Gerhardt[1]) dafür gegel Bildungsgleichungen:

$$4(CN_2H_4O) = \underset{\text{Ammelid}}{C_3N_4H_4O_2} + CO_2 + NH_3$$

$$6(\underset{\text{Ammelid}}{C_3H_4N_4O_2}) = 3(C_3H_3N_3O_3 + CHNO + NH_3) + \underset{\text{Mellon}}{C_6H_3N_9}$$

[1]) Annales de Chimie et Phys. **19**, 95, 1897.

und aus dem Verhalten dieser Substanzen gegen Säuren und Alkalien, dass ihre molekulare Structur durch das gleiche Condensationsgesetz bedingt ist, d. h. dass die Kohlenstoffatome im Molekül nicht durch gegenseitige Bindung, sondern durch die Stickstoffaffinitäten verkettet werden.

Bern, im Februar 1876.

---

# Zur Geschichte des Indols und der Fäulnissprocesse im thierischen Organismus

von

**M. Nencki.**

Ber. 9, 299. (Eingegangen am 20. Februar; verlesen in der Sitzung von Herrn Oppenheim.)

Seitdem ich das Indol als ein Product der Verdauung erkannte und auch dessen Darstellungsmethode aus Albumin gefunden habe, konnte ich erwarten, auch die Natur der nach Fütterung mit Indol im Harne auftretenden, Indigo bildenden Substanz erforschen zu können. Und nachdem ich gesehen, dass Hunde, mit einem Gramm Indol gefüttert, keine Intoxicationserscheinungen zeigten, habe ich in meiner letzten Publication[1]) mir die weitere Untersuchung über diesen Gegenstand vorbehalten. Da nun Herr Baumann[2]) angezeigt hat, dass er mit Versuchen, ob bei Thieren das Indol nicht in Form einer Sulfosäure ausgeschieden werde, beschäftigt ist, so werde ich meine Versuche vorläufig einstellen und die Publication des Herrn Baumann abwarten. Nur möchte ich bemerken, dass aus dem nach Fütterung mit Indol erhaltenen Hundeharn durch Zusatz von Salzsäure und Chlorkalklösung Indigblau abgeschieden wird, durch Salzsäure allein dagegen ein purpurrother, sublimirbarer Farbstoff erhalten wurde, sehr ähnlich, wenn nicht identisch mit dem, welchen Herr Niggeler in meinem Laboratorium nach Fütterung mit Isatin aus dem Harne isolirt hatte. Grössere Dosen Indol (2 g in 24 Stunden) wurden von dem gleichen Hunde nicht mehr ertragen, der an heftigen Durchfällen, mit Hämaturie verbunden, erkrankte.

Im zweiten Hefte der diesjährigen Berichte findet sich über den gleichen Gegenstand eine Mittheilung von Herrn E. Salkowski, worin der Verfasser, gestützt auf zahlreiche neuere Untersuchungen von Kühne, Hüfner, Hoppe-Seyler, es als immer wahrscheinlicher bezeichnet, dass ein grosser Theil des Eiweisses im lebenden Körper ganz in derselben Richtung zerfällt, wie bei der Fäulniss — beide Processe identisch sind". Ich glaubte umgekehrt auf Grund der Versuche von Kühne, Hüfner und mir annehmen zu müssen, dass diese beiden Processe, d. h.

[1]) Ber. 8, 722. — Dieser Band S. 115.
[2]) Ber. 9, 58.

die Zersetzung des Eiweisses durch thierische, ungeformte (niedrige Organisme schon durch die auftretenden Spaltungsproducte wesentlich von einander verschied sind. Hat doch gerade Hüfner beobachtet, dass Eiweiss, mit reinem Pankrea ferment digerirt, unter Ausschluss aller organisirten Gebilde selbst nach mehrer Tagen keinen unangenehmen Geruch entwickelte, dass also kein Indol dabei gebild wurde. Umgekehrt hat in meinem Laboratorium Herr A. Secretan die älter Versuche von Bopp über die Zersetzung des Eiweisses durch Fäulniss wiederh und gefunden, dass aus Eiweiss beim blossen Stehen an der Luft, ohne jeden Zusa von Pankreas oder eines anderen thierischen Gewebes, Indol gebildet wird, u wobei die mikroskopische Untersuchung der faulenden Flüssigkeit zahllose Meng der Mikrococcen und Bacterien ergab. Die der hiesigen medicinischen Facultät berei im vorigen Sommer als Doctordissertation vorgelegte Arbeit findet sich auch in de letzten Hefte der in Genf erscheinenden Archives des sciences physiques naturelles abgedruckt. In einem in der Versammlung des schweizerischen ärztlich Centralvereins in Olten am 23. October 1875 gehaltenen Vortrage[1]) habe ich dah das Indol als ein specifisches Zersetzungsproduct des Eiweisses durch geform Fermente bezeichnet, gegenüber den durch ungeformte thierische Fermente en standenen Producten. Das Auftreten von Indican im Harne beim Hunger kann nic als Beweis für die Bildung des Indols im thierischen Organismus durch ungeform Fermente angesehen werden, seitdem wir durch die älteren Versuche von Bécham und die neueren von Tiegel wissen, dass die Keime der niedrigen Organism nicht ausschliesslich im Pankreas, sondern auch im Muskel, in der Leber und andere thierischen Geweben vorkommen, und nichts steht der Annahme im Wege, dass d minimalen Quantitäten von Indol nicht im Darme, sondern wo anders gebildet werde

---

## Zur Frage über die Constitution der Guanamine und der polymeren Cyanverbindungen

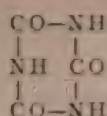
von

**M. Nencki.**

Ber. 9, 1008. (Eingegangen am 26. Juni; verles in der Sitzung von Herrn Oppenheim.)

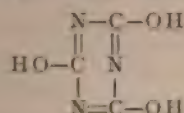
Die Structurformeln, die ich bei der Erklärung der Entstehung der Guanami und im Anschluss daran auch der polymeren Cyanverbindungen für die wahrschei lichsten hielt, sind seither Gegenstand mehrfacher Erörterungen geworden, wodur ich mich zu folgenden Bemerkungen veranlasst sehe; die Ansicht, dass die Cya säure Carbimid $C\begin{matrix}\diagup\!\!\!\diagup O\\ \diagdown\!\!\!\diagdown NH\end{matrix}$ und die Cyanursäure ein daraus durch Atomverschiebung i Molekül entstandenes Tricarbimid

[1]) Correspondenzblatt für Schweizer Aerzte Nr. 23, 1875.

```
CO—NH
|    |
NH  CO
|    |
CO—NH
```

ist, schien mir allerdings, noch bevor ich die Spaltungsproducte des Acetoguanamins kennen lernte, auf Grund früherer Arbeiten hierüber die wahrscheinlichste. Die Kenntnisse der Guanamine und deren Derivate hat mich daher nicht zu dem Schluss geführt, dass die Cyan- und Cyanursäure nicht Hydroxylverbindungen

```
C≡N
   \
    OH
```

und

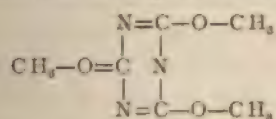
```
      N—C—OH
      ‖  ‖
HO—C  N
      |  |
      N=C—OH
```

seien, sondern ich ging von der Voraussetzung aus, dass sie, und folglich auch die Guanamine und deren Derivate, Carbimidkörper sind. Dass die Cyansäure ein Carbimid ist, dafür sprechen hinreichende Beobachtungen, die nur unter dieser Annahme verständlich sein können. So der leichte Zerfall in $CO_2$ und $NH_3$. Die Bildung von Formamid[1]) mit nascirendem Wasserstoff. Die Bildung von Carbamidäthern durch Destillation der Alkalisalze der Aetherschwefelsäuren mit gewöhnlichem, cyansaurem Kalium, die den wahren Cyansäureäthern von Cloëz isomer sind. Andererseits weist die Literatur der Cyankörper Fälle genug auf, die deutlich zeigen, wie unbeständig die wahren Cyansäureverbindungen sind und wie leicht sie in die entsprechenden Carbimidverbindungen übergehen. Schon das durch Einwirkung von Ammoniak auf Chlorcyan entstehende Cyanamid zeigt nicht das Verhalten eines Amids, sondern scheint vielmehr das Carbodiimid zu sein, wie dies aus der von Herrn Mulder[2]) erhaltenen Silberverbindung hervorgeht. Ein Silbersalz von der Structurformel

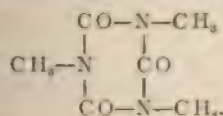
```
C≡N
   \
    NAg₂
```

wäre ohne Analogie und ist daher unwahrscheinlich. Das durch Einwirkung von Chlorcyan auf Natriummethylat entstehende Methylcyanat

```
C≡N
   \
    O—CH₃
```

geht durch Atomverschiebung in die trimolekulare Verbindung, das wahre Methylcyanat

```
            N=C—O—CH₃
            |  |
CH₃—O=C     N
            |  |
            N=C—O—CH₃
```

über[3]); allein schon beim Erwärmen lagert sich dieses zu Tricarbimidäther um:

```
        CO—N—CH₃
        |     |
CH₃—N      CO
        |     |
        CO—N—CH₃.
```

[1]) Ber. 4, 400.

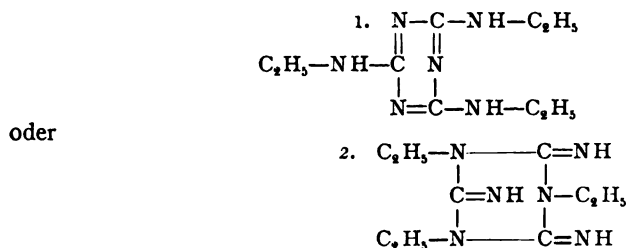
[2]) Ebendaselbst 6, 656.

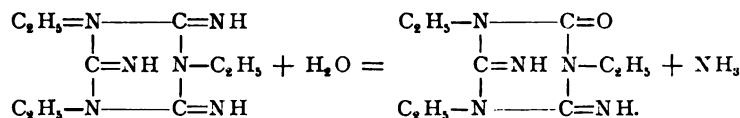
[3]) A. W. Hofmann und O. Olshausen, Ber. 3, 272.

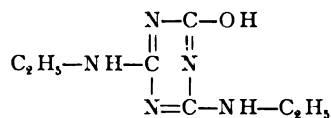
Durch Entschwefelung des Aethylsulfoharnstoffs oder durch Einwirkung vc
cyan auf Aethylamin entsteht das Aethylcyanamid $\begin{matrix} C{\equiv}N \\ \diagdown NH-C_2H_5 \end{matrix}$, welch
Polymerisation in die trimolekulare Verbindung, das Triäthylmelamin [1]),
Dieser Körper, je nachdem er die Aethylverbindung des wahren Cyanurtria
des Tricarbodiimids ist, würde die Structurformel:

```
1.            N—C—NH—C2H5
              ‖ ‖
   C2H5—NH—C  N
              | |
              N=C—NH—C2H5
```

oder

```
2.  C2H5—N———C=NH
         |   |
       C=NH  N—C2H5
         |   |
    C2H5—N———C=NH
```

haben. Dass dem Triäthylmelamin nur die Structurformel 2. zukomm
ergiebt sich zunächst aus dem Umstande, dass Trimethylmelamin beim
Aufkochen mit Salzsäure in Triäthylamelin verwandelt wird:

```
C2H5=N———C=NH                C2H5—N———C=O
     |   |                        |   |
   C=NH  N—C2H5 + H2O =         C=NH  N—C2H5 + NH3
     |   |                        |   |
C2H5—N———C=NH                C2H5—N———C=NH.
```

Nach der Formel 1. müsste das Triäthylmelamin unter Aethylaminabspal
Körper:

```
            N—C—OH
            ‖ ‖
C2H5—NH—C   N
            | |
            N=C—NH—C2H5
```

liefern.

Durch mehrstündige Digestion mit Salzsäure in geschlossenen Röh
ferner das Triäthylmelamin in den Aethyläther des Tricarbimids über.

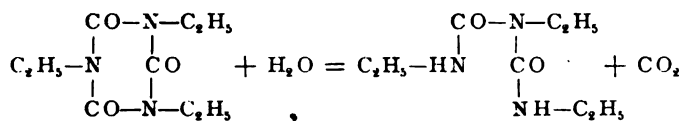
Es geht hieraus hervor, dass 1. das Aethylcyanamid beim Uebergar
trimolekulare Verbindung sofort die Carbimidlagerung annimmt, und 2.
Bildung des Triäthylammelins und des Tricarbimidäthers aus Triäthylmel
directen Beweis, dass in den Imidokörpern bei der Aufnahme von Wasser
spaltung von Ammoniak an Stelle der Imidogruppe der Sauerstoff des W
seinen beiden Affinitäten an Kohlenstoff gebunden wird.

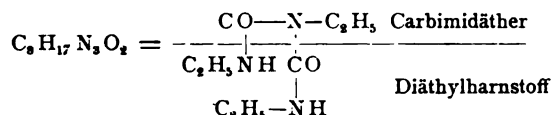
Tricarbimidäthyläther, mit Barytwasser gekocht, geht unter Kol
abspaltung und Aufnahme von Wasser in das ölige Product von der Zı
setzung $C_3H_{17}N_3O_2$ über (Limpricht und Habich [2]). Die Entstehun
molekulare Structur dieses Körpers wird durch folgende Structurform
schaulicht.

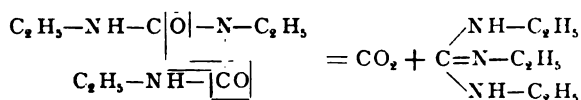
---

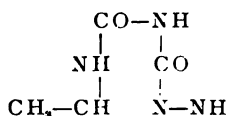
[1]) A. W. Hofmann, Ber. **3**, 264.

[2]) Ann. Chem. Pharm. **74**, 208.

$$\begin{array}{l} CO-N-C_2H_5 \\ | \qquad | \\ C_2H_5-N \quad CO \\ | \qquad | \\ CO-N-C_2H_5 \end{array} + H_2O = \begin{array}{l} CO-N-C_2H_5 \\ | \qquad | \\ C_2H_5-HN \quad CO \\ \qquad | \\ \qquad NH-C_2H_5 \end{array} + CO_2$$

d. h. das ölige Product von **Limpricht** und **Habich** ist ein symmetrisches Triäthylbiuret. Auf 170 bis 200° erhitzt, zerfällt das Triäthylbiuret in Carbimidäthyläther und Diäthylharnstoff:

$$C_8H_{17}N_3O_2 = \begin{array}{l} CO-N-C_2H_5 \text{ Carbimidäther} \\ \hline C_2H_5NH\ CO \\ \qquad | \quad \text{Diäthylharnstoff} \\ C_2H_5-NH \end{array}$$

Tricarbimidäther, mit Natriumäthylat erhitzt, ergiebt neben Natriumcarbonat Aethylen, Alkohol, Aethylamin, Triäthylbiuret und Triäthylguanidin (Triäthylcarbotriamin **Hofmann's**[1]). Die Entstehung des Triäthylguanidins lässt sich sehr einfach dadurch erklären, dass das Triäthylbiuret unter nochmaligem Austritt von CO als $CO_2$ in das triäthylirte Guanidin übergeht:

$$\begin{array}{l} C_2H_5-NH-C\boxed{O}-N-C_2H_5 \\ C_2H_5-NH-\boxed{CO} \end{array} = CO_2 + C \begin{array}{l} \diagup NH-C_2H_5 \\ =N-C_2H_5 \\ \diagdown NH-C_2H_5 \end{array}$$

Der Austritt von CO aus den Carbimidkörpern unter geeigneten Umständen ist daher gewissermaassen für sie charakteristisch, der gleiche Vorgang findet aber statt, wenn die gewöhnliche Cyansäure durch die Einwirkung von Aldehyden polymerisirt wird. Cyansäuredampf, in wasserfreien Aldehyd geleitet, bildet Trigensäure und Kohlensäure. Der aldehydische Sauerstoff tritt mit einem Carbonyl der durch Atomverschiebung der Cyansäure im Entstehen begriffenen Cyanursäure als CO aus und das Aethyliden tritt in das Molekül der Cyanursäure statt der CO-Gruppe ein. Die molekulare Structur der Trigensäure ist daher folgende:

$$\begin{array}{l} \qquad CO-NH \\ \qquad | \qquad | \\ \qquad NH \quad CO \\ \qquad | \qquad | \\ CH_3-CH \quad N-NH \end{array}$$

d. h. die Trigensäure ist Aethylidenbiuret und man wird vielleicht durch Einwirkung von Aldehyden auf Biuret Trigensäure und ihre Homologen darstellen können.

Herr **Fleischer**[2]) meint, dass Speculationen über die Constitution der Cyansäure und ihrer Salze experimenteller Grundlage vollkommen entbehren. Wenn dieser Herr den obengenannten, allbekannten Experimenten mehr Aufmerksamkeit geschenkt hätte, so würde er schwerlich diesen apodiktischen Ausspruch gethan haben. Jedenfalls wäre dies zweckmässiger, als selber nach experimentellen Beweisen zu suchen, denen man es von vornherein ansieht, dass sie nichts beweisen können. Da ich die Carbimidnatur der Cyansäure für erwiesen halte, so habe ich hervor-

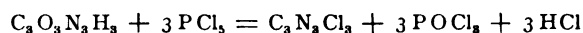
[1]) Compt. rend. **52**, 1290.

[2]) Ber. **9**, 436.

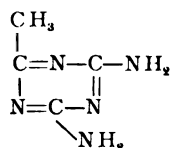
gehoben, wie einfach der Uebergang der Cyansäure in Cyanursäure und die Rückverwandlung der letzteren in Cyansäure von diesem Gesichtspunkte aus erklärt wird; denn nach allem Vorhergehenden halte ich die Atomverschiebung von $\left(C\begin{matrix}{\diagup\!\!\!\diagup O}\\{\diagdown NH}\end{matrix}\right)_3$ zu

```
N—C—OH
‖  ‖
HO—C  N
|  |
N=C—OH
```

für sehr unwahrscheinlich, der einzige Umstand, der anscheinend gegen die Carbimidnatur der Cyanursäure spricht, ist die Umwandlung derselben durch Phosphorpentachlorid zu festem Chlorcyan. Schiff[1]) ist diese Reaction auch beim Erwärmen nicht gelungen. Dagegen hat Beilstein[2]), als er den Versuch wiederholte und grössere Quantitäten Cyansäure mit etwa der sechsfachen Menge Phosphorpentachlorid erhitzte, festes Chlorcyan im Destillate erhalten. Wie gross die Ausbeute an festem Chlorcyan war, ist in der Mittheilung nicht angegeben, so dass nicht zu ersehen ist, ob die Reaction einfach nach der Gleichung:

$$C_3O_3N_3H_3 + 3\,PCl_5 = C_3N_3Cl_3 + 3\,POCl_3 + 3\,HCl$$

verläuft, oder ob sie einer Nebenreaction ihren Ursprung verdankt; auch sind die Schlussfolgerungen, die man aus dem Verhalten von $PCl_5$ gegen Carboxylverbindungen zu ziehen pflegt, nicht ohne Weiteres auf die Cyanursäure anwendbar.

Die Interpretation, welche Herr Weith[3]) für die Entstehung der Guanamine in Vorschlag bringt und die nur in einer anderen Auffassung über den Antheil, welcher den fetten Säuren bei diesem Processe zukommt, von der meinigen abweicht, stimmt mit den empirischen Thatsachen überein und hat überdies den Vorzug der Einfachheit und Analogie, so dass ich kein Bedenken trage, sie als die wahrscheinlichere anzuerkennen. Was dagegen die Ansicht des Herrn Claus betrifft, dass dem Acetoguanamin die Structurformel

```
CH3
|
C=N—C—NH2
|    ‖
N=C—N
   \NH2
```

zukomme, wonach das Guanid ein Monohydroxyl-, das Guanamid ein Dihydroxyl— und die bei der Oxydation entstehende Cyanursäure ein Trihydroxylderivat ist, so will ich gerne zugeben, dass an und für sich betrachtet die Constitution der Guanamine und der Cyanursäure ebenso gut nach der einen wie nach der anderen Formel erklärt werden kann. Im Lichte aber der oben angeführten Thatsachen werden die Claus'schen Formeln schwerlich vor den Carbimidformeln den Vorzug verdienen.

Bern, im Juni 1876.

[1]) Ann. Chem. Pharm. **106**, 118.

[2]) Ebendaselbst **116**, 357.

[3]) Ber. **9**, 458.

# Entgegnung

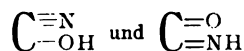
von

**M. Nencki.**

Ber. 9, 1552. (Eingegangen am 10. October; verl. in der Sitzung von Herrn Liebermann.)

Meine letzten Bemerkungen[1]) zur Frage über die Constitution der Guanamine und der Cyansäure haben bei Herrn Claus[2]) Widerspruch gefunden. Nach ihm sind die Gründe, die ich für die Carbimidnatur der Cyansäure anführte, durchaus nicht beweisend. Ich habe hierauf Folgendes zu erwidern.

1. Für die Carbimidnatur der Cyansäure spricht ihr leichter Zerfall in $CO_2$ und $NH_3$. Von den beiden isomeren Verbindungen:

$$C{\equiv N \atop -OH} \quad \text{und} \quad C{=O \atop =NH}$$

ist von vornherein zu erwarten, dass das Carbimid, das schon aus CO und NH besteht, leichter als die Hydroxylverbindung und unter allen Umständen in $CO_2$ und $NH_3$ zerfallen wird, namentlich also ohne Bildung anderer Nebenproducte, die man als Cyankörper aufzufassen hätte. Dies ist nun bei der gewöhnlichen Cyansäure der Fall, deren Dampf z. B. in Wasser geleitet unter Aufbrausen glatt in $CO_2$ und $NH_3$ zerfällt. Dass die wahre Cyansäure

$$C{\equiv N \atop -OH}$$

unter geeigneten Umständen in Kohlensäure und Ammoniak gespalten werden kann, habe ich nie bezweifelt. Ob diese Spaltung jedoch unter allen Umständen so glatt sein wird wie bei der gewöhnlichen Cyansäure, ist mir nicht wahrscheinlich. Wenn Herr Claus gesteht, dass der leichte Zerfall in Kohlensäure und Ammoniak für die Carbimidnatur der Cyansäure an Beweiskraft sich nicht übertreffen lässt, so ist mir dieses Geständniss für den Scharfsinn des Herrn Claus sehr charakteristisch. Mit Recht haben übrigens lange vor mir andere Chemiker diesen Umstand als bezeichnend für die Carbimidnatur der Cyansäure hervorgehoben. So schreibt z. B. Kekulé (Lehrbuch der organ. Chemie 1, 345): „Die Cyansäure löst sich in Wasser zu einer sauer reagirenden Flüssigkeit. Diese Lösung zersetzt sich bald in kohlensaures Ammoniak und in Harnstoff. Beide Zersetzungen zeigen, dass die Cyansäure ein Rest des kohlensauren Ammoniaks, das Imid der Kohlensäure ist."

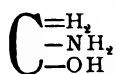
2. Herr Claus sagt: „Die von Bassarow beobachtete Bildung von Formamid aus cyansaurem Kalium kann nicht als Beweismittel angezogen werden, da keine Analyse des so erhaltenen Formamids ausgeführt worden ist." In der betreffenden Notiz heisst es wörtlich[3]):

[1]) Ber. 9, 1008. — Dieser Band S. 174.

[2]) Ber. 9, 1165.

[3]) Ebendaselbst 4, 409.

„Bei der Einwirkung von flüssigem Natriumamalgam auf cyansaures Kalium, wobei von Zeit zu Zeit mit schwacher Salzsäure angesäuert wurde, bildet sich Formamid, letzteres würde zwar nicht durch die Analyse, jedoch durch alle Eigenschaften constatirt.“ Ungeachtet der mir übrigens sehr unwahrscheinlichen Vermuthung des Herrn Claus, dass der Körper von Bassarow die Zusammensetzung:

$$C\begin{cases}=H_2\\-NH_2\\-OH\end{cases}$$

habe und durch Wasserstoffaddition aus der Formel

$$C\begin{cases}\equiv N\\-OH\end{cases}$$

entstanden sei, werde ich doch auch in Zukunft die Ansicht beibehalten, dass aus cyansaurem Kalium durch nascirenden Wasserstoff Formamid entsteht.

3. Wenn Herr Claus einsieht, dass die wahren Cyansäureverbindungen sehr leicht in die entsprechenden Carbimidkörper übergehen, und auch damit einverstanden ist, dass das durch Einwirkung von Ammoniak auf Chlorcyan entstehende Cyanamid Carbodiimid ist, so entwaffnet er sich selbst; denn da wir wissen, dass solche Atomverschiebungen durch erhöhte Temperatur eingeleitet oder begünstigt werden, so muss er um so mehr zugeben, dass das in ähnlicher Reaction aus Cyankalium durch Sauerstoffaufnahme entstehende cyansaure Kalium, wie beim Schmelzen des Cyanalkalimetalls bei Luftzutritt oder mit leicht reducirbaren Oxyden, die Structur

$$C\begin{cases}/\!/O\\\backslash\!\backslash NK\end{cases}$$

haben muss. In der That erhielt auch Herr Bannow[1]) vorzugsweise in Processen, welche bei niedriger Temperatur Kaliumcyanat liefern können, so beim Einleiten von Chlorcyan in starke wässerige Kalilauge, ein isomeres cyansaures Salz, welches von ihm als das wahre Kaliumcyanat

$$C\begin{cases}\equiv N\\-OK\end{cases}$$

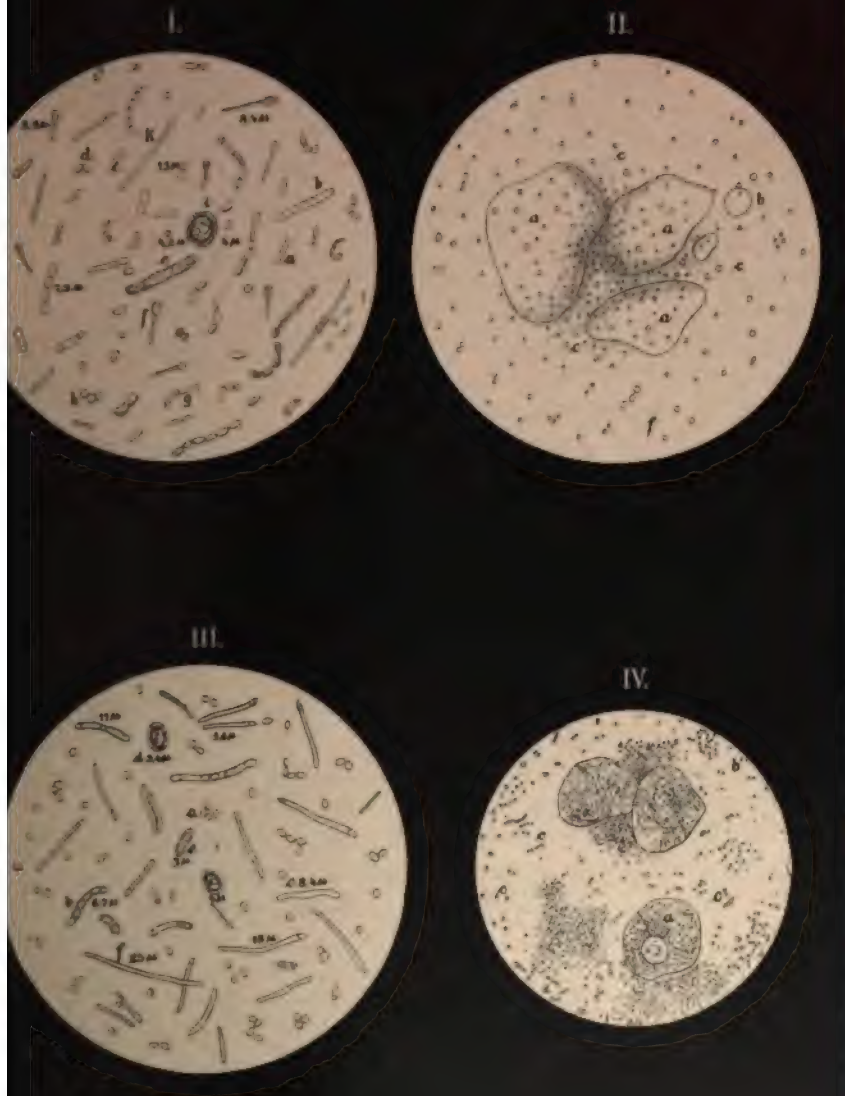
angesehen wird. — Herrn Claus beliebt es jedoch, diese Atomverschiebung nur in dem besonderen Augenblicke anzunehmen, wenn in dem cyansauren Kalium für das K eine Alkylgruppe eingeführt werden soll!

Auch die kürzlich von Herrn Michler[2]) beobachtete Spaltung des Diphenylharnstoffs in Cyansäure und Diphenylamin lässt sich ungezwungen nur durch die Annahme der Carbimidformel für die Cyansäure erklären. Herrn Claus scheint aber auch dieser Umstand nichts zu beweisen.

Schliesslich will ich bemerken, dass mir die Fortsetzung dieser Discussion nutzlos erscheint und ich daher etwaige weitere Erörterungen nicht mehr berücksichtigen werde.

Bern, im October 1876.

[1]) Ber. **4**, 254.

[2]) Ebendaselbst **9**, 715.

I.

II.

III.

IV.

Opera omnia

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn in Braunschweig.

# Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas

von

**M. Nencki.**

(Hierzu Tafel II.)

Festgabe an G. Valentin von der med. Facultät in Bern.

Untersuchungen über das Vorkommen von Farbstoffen aus der Indigogruppe im normalen Harne, welche, veranlasst durch eine Notiz von Jaffé, in meinem Laboratorium ausgeführt wurden, sind der Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit gewesen.

Um das Vorkommen einer Indigblau liefernden Substanz im normalen Harn — welcher Farbstoff zwar in sehr geringer Menge daraus erhalten werden kann, jedoch durch seine charakteristischen Eigenschaften leicht kenntlich ist — zu erklären, ging Jaffé von der Voraussetzung aus, dass vielleicht das Indol, das schon von Baeyer als die Muttersubstanz der ganzen Indigogruppe aufgefasst wurde, auch diejenige Materie sei, aus welcher im thierischen Organismus die Indigblau bildende Substanz entstehen könne. Diese Voraussetzung wurde durch das Experiment als richtig erwiesen. Nach subcutaner Injection von Indol beobachtete Jaffé[1]) constant sehr beträchtliche Mengen von Indigo bildender Substanz im Harne, welche Beobachtung später von Masson[2]) und mir[3]) auch bei Fütterung von Hunden mit Indol durchaus bestätigt wurde. Aus dem nach Fütterung mit Indol erhaltenen Hundeharn kann durch Zusatz von Salzsäure und Chlorkalklösung Indigblau in grossen Mengen abgeschieden werden, während durch Erwärmen des Harnes mit Salzsäure allein ein purpurrother, sublimirbarer Farbstoff abgeschieden wird. Nach den letzten Mittheilungen Baumann's[4]) verlässt das Indol wahrscheinlich in Form einer gepaarten Schwefelsäure den Organismus, welche je nach Zusatz von Chlorkalk und Salzsäure, oder Salzsäure allein in Schwefelsäure und Indigblau, resp. den purpurnen Farbstoff gespalten wird. Indem nun durch die obigen Versuche die Thatsache, dass im Organismus das Indol zu dem Harnindigo umgewandelt wird, festgestellt wurde, erschien es um so wünschenswerther, die Bildung des Indols aus den Nahrungsstoffen im thierischen Körper zu erforschen und so den causalen Zusammenhang zwischen Eiweiss (denn in letzter Instanz konnte das stickstoffhaltige Indol nur von diesem Nahrungsstoff abstammen) und dessen einem Ausscheidungsproduct, dem Harnindigo, nachzuweisen.

---

[1]) Med. Centralblatt 1872, S. 2.

[2]) Des matières colorantes du groupe Indigo, considérées au point de vue physiologique par M. F. Masson. Dissertation inaugurale. Berne 1874. — Dieser Band S. 98.

[3]) Ber. 9, 299. — Dieser Band S. 173.

[4]) Pflüger's Archiv f. Physiologie 13, 306.

Anhaltspunkte über die Bildung des Indols aus Eiweiss und den Ort dieses Processes waren durch die Arbeit von Kühne[1]) über die Pankreasverdauung gegeben. In einem Versuche, wo Kühne Eiweiss mit fein zerhacktem Pankreas längere Zeit stehen liess, bemerkte er, dass die Verdauungsflüssigkeit einen unerträglichen Geruch, ähnlich dem des Naphtylamins oder des Indols, entwickelte. Es war bereits kurz vorher das Indol von Baeyer[2]) entdeckt worden. Nach ihm beobachtete Radziejewski[3]), dass die Aetherextracte der Fäces den charakteristischen Indolgeruch besassen und durch salpetrige Säure enthaltende Salpetersäure roth gefärbt wurden. Die obigen Beobachtungen haben mich bestimmt, die Versuche Kühne's zu wiederholen und zwar zunächst in der Absicht, diese nach Naphtylamin oder Indol riechende Substanz zu isoliren, um durch Elementaranalysen und eingehendere Untersuchung ihrer Eigenschaften ihre Natur zu erforschen. Die ersten Versuche habe ich genau nach den Angaben Kühne's angestellt. Fibrin wurde mit fein zerhacktem Pankreas soeben getödteter Hunde und dem 15- bis 20 fachen Gewichte Wasser 3 bis 6 Stunden bei 35 bis 40° C. auf dem Wasserbade digerirt. Nach Verlauf dieser Zeit wurde die Flüssigkeit von dem unverdauten Fibrin und Pankreasstückchen durch Leinen filtrirt, sodann mit Essigsäure angesäuert, zum Sieden erhitzt und die von dem geronnenen Eiweiss abgedampfte Flüssigkeit auf dem Wasserbade concentrirt. Durch Alkoholzusatz konnte daraus neben Peptonen Leucin und Tyrosin isolirt werden. Um aus der Verdauungsflüssigkeit Indol zu isoliren, wurde sie mit Aether geschüttelt, wobei allerdings der bei gelinder Temperatur abdestillirte Aether einen Rückstand hinterliess, welcher, mit Wasser aufgenommen, mit einem Tropfen rauchender Salpetersäure sich roth färbte und im Stehen einen rothen flockigen Niederschlag absetzte, jedoch in so minimaler Menge, dass an weitere Untersuchung desselben nicht zu denken war. Auch der Versuch durch Destillation der Flüssigkeit, wobei ich erwartete, dass das Indol sich mit den Wasserdämpfen verflüchtigen würde, fiel insofern positiv aus, als das Destillat mit rauchender Salpetersäure sich roth färbte, jedoch wurden beim Stehen aus der Lösung nur Spuren des rothen Farbstoffes abgesetzt. Sehr bald erkannte ich jedoch, dass die Indolbildung bei der Digestion von Eiweiss mit Pankreas einem anderen Processe seinen Ursprung verdankt. Ich bemerkte nämlich, dass der Indolgeruch der Verdauungsflüssigkeit um so intensiver wurde, je länger ich die Digestion fortsetzte. Noch bevor aber der üble Geruch deutlich wahrnehmbar war, zeigte die mikroskopische Untersuchung der Verdauungsflüssigkeit organisirte Gebilde — Vibrionen und Bacterien —, deren Menge sich colossal vermehrte, in dem Maasse, als der widrige Geruch der Flüssigkeit intensiver wurde. Da nun Bopp[4]) (im Jahre 1849) bei der Fäulniss von Eiweiss an der Luft die Bildung einer Substanz von intensiv unangenehmem Geruch, leicht in Aether löslich und daraus in Blättern krystallisirend, die mit Salzsäure oder verdünnter Schwefelsäure sich rosa färbte, beobachtete, so lag die Ansicht sehr nahe, dass die Substanz von Bopp das Indol war und die Indolbildung bei der Digestion von

[1]) Virchow's Archiv **39**, 165.
[2]) Ann. Chem. Pharm. Suppl. **7**, 59.
[3]) Archiv von Du-Boys-Reymond und Reichert 1870, S. 43.
[4]) Ann. Chem. Pharm. **69**, 70.

Eiweiss mit Pankreas eine Fäulnisserscheinung ist. Wohl Jedem aber, der sich mit Pankreasverdauungsversuchen beschäftigte, ist es aufgefallen, mit welcher rapiden Geschwindigkeit die Pankreasdrüse oder auch deren Saft in Fäulniss übergeht. So erwähnt Valentin[1]), dass Stärke mit menschlicher Bauchspeicheldrüse schon nach 18 stündiger Digestion bei 35° C. faulig roch. Das Mikroskop brachte nicht bloss mechanisch vertheilte Stärkemehlkörnchen, sondern sehr kleine Körnchen und parasitische Stäbchen zur Anschauung. Sie bestanden theils aus Fäden, die dunkle sporenähnliche Wesen, in einzelnen Entfernungen reihenweise geordnet, enthielten, theils aus gesonderten Samengebilden, die in der Flüssigkeit selbst schwammen. Frerichs[2]) bemerkt, dass schon nach wenigen Stunden der pankreatische Saft, wenn er in einem offenen Gefässe bei einer Temperatur von 25° C. an der Luft steht, unzweideutige Zeichen putrider Zersetzung erkennen lässt, und Claude Bernard machte zuerst die Beobachtung, dass der Zersetzung überlassener Pankreassaft durch rohe Salpetersäure schön roth gefärbt wird, welche Färbung auf der Bildung des später von mir untersuchten Farbstoffes von der Zusammensetzung $C_{16}H_{13}N_3O\,NO_3H$ beruht.

Da nun nach 24 stündiger Digestion mit Pankreas noch sehr viel unzersetztes Eiweiss in Lösung blieb, so habe ich angenommen, dass in diesem Zeitraume der hier stattfindende Fäulnissprocess noch lange nicht beendigt und die brüske Unterbrechung desselben die Ursache der minimalen Ausbeute an Indol sei. Ich wiederholte daher den Versuch genau unter den obigen Bedingungen, jedoch mit dem Unterschiede, dass die Verdauungsflüssigkeit statt mehrere Stunden 3 bis 5 Tage lang ohne Unterbrechung auf der Bruttemperatur erhalten wurde. Nach Verlauf dieser Zeit hörte die Gasentwickelung fast gänzlich auf. Hierauf wurde die alkalische, sehr viel kohlensaures Ammoniak enthaltende, stark stinkende Flüssigkeit durch ein grobmaschiges Tuch von den macerirten Drüsenstückchen, die dann nur aus Bindegewebsresten bestehen, filtrirt, mit Essigsäure angesäuert und aus tubulirten Retorten destillirt. Das filtrirte saure Destillat (die Reaction rührt von den mit übergegangenen flüchtigen Fettsäuren her) wurde sodann bis zur alkalischen Reaction mit Natronlauge versetzt und mit dem gleichen Volumen Aether geschüttelt. Die klare, abgegossene, ätherische Lösung hinterliess nach dem Abdestilliren ein röthliches Oel mit dem charakteristischen Indolgeruch. Dieses Oel, mit wenig Wasser versetzt, erstarrt nach einiger Zeit krystallinisch und ist, aus heissem Wasser umkrystallisirt, reines, bei 52° C. schmelzendes Indol. Von Einfluss auf die Ausbeute ist die Zeit und auch die Temperatur. Die grösste Menge Indol wird nach 4- bis 5 tägigem Digeriren erhalten. Durch längeres Stehen wird die Ausbeute nicht erhöht, im Gegentheil; z. B. nach achttägigem und noch längerem Stehen verflüchtigt sich das Indol und die Ausbeute ist viel geringer. Die günstigste Temperatur schwankt gegen 40° C. Im Verlauf der ganzen Zersetzung findet stetig Gasentwickelung statt, auch ist Luftzutritt für den günstigen Verlauf dieses Processes nöthig. Aus der mit Essigsäure angesäuerten Flüssigkeit coagulirt dann beim Destilliren nur

[1]) Lehrbuch der Physiologie 1847, S. 356.
[2]) Artikel Verdauung in Wagner's Handwörterbuch der Physiologie 3, 846.

wenig oder gar kein Eiweiss mehr. Ich erhielt so etwa 0.5 Proc. Indol von dei Gewicht des angewandten Albumens. Da diese Art der Gewinnung zugänglich und nicht so kostspielig wie aus dem Indigblau ist, so habe ich es nach der obige Methode in grösseren Mengen bereitet, um es einer genaueren chemischen Unte suchung zu unterwerfen. Durch die Dampfdichtebestimmung im Naphtalindamp im Vacuum habe ich das Molekulargewicht des Indols als $= C_8H_7N$ festgestel Die Analysen des rothen, durch Einwirkung von rauchender Salpetersäure a wässerige Indollösung entstehenden Farbstoffes haben gezeigt, dass es ein salpete saures Salz von der Zusammensetzung $C_{16}H_{13}N_3ONO_3H$ ist.

Dieser Farbstoff, den ich der Zusammensetzung nach für salpetersaures Nitros indol hielt, und das aus ihm durch alkoholisches Schwefelammonium erhalte Reductionsproduct haben mich ursprünglich zu der irrigen Auffassung geführt, da das Molekulargewicht des Indols $C_{16}H_{14}N_2$ sei. In Betreff der Details dieser Unte suchungen verweise ich auf meine Publicationen in den Berichten der deutsch chemischen Gesellschaft [1]). Hier möchte ich nur die gewiss auch physiologis interessante Thatsache erwähnen, dass es mir gelungen ist, durch Einwirkung v Ozon Indol in Indigblau überzuführen. Gewöhnlich bediente ich mich zu dies Indolbereitung des käuflichen Eiweisses aus Blut. Jedoch liefert auch Eiereiwei ziemlich die gleiche Menge Indol, dagegen aus Leim wurde constant kein Ind gebildet. Auch hat kürzlich Salkowski [2]) gezeigt, dass hungernde Hunde, n Leim gefüttert, keine Vermehrung des Harnindigos hatten, während dies wohl na Fleischfütterung eintrat.

Nachdem ich erkannte, dass längere Digestion von Eiweiss mit der Bauc speicheldrüse unter Auftreten von niedrigen Fäulnissorganismen zur Bildung v Indol führe, war es von hohem Interesse, zu untersuchen, welche Spaltung bei dies Art Fäulniss das Molekül der Proteïnsubstanz erleidet, und ob die hier auftretend Spaltungsproducte die gleichen sein werden, wie wir sie bei der Fäulniss d Eiweisses an der Luft kennen. Die hierauf bezüglichen, zunächst auf Anregu Liebig's von Laskowski, Iljenko [3]) und namentlich Bopp [4]) ausgeführten Unte suchungen haben ergeben, dass die Zersetzung des Eiweisses durch die Fäulniss d gleichen Producte aufweist, wie wir sie einerseits durch Hydratation — also Koch mit Säuren und Alkalien —, andererseits durch directe Oxydation aus Eiwei erhalten können. Iljenko erhielt bei Fäulniss des Thiercaseïns Leucin, Butter- u Valeriansäure, daneben offenbar auch das Indol, siehe l. c. S. 267. Würtz [5]) h ebenfalls die Bildung von Buttersäure bei der Fäulniss des Fibrins beobachtet. Na Bopp entsteht aus dem Albumen Fibrin oder Caseïn, bei der Fäulniss an der L Schwefelammonium, Essig-, Butter- und Valeriansäure, eine ölartige Säure, welc von essigsaurem Blei gefällt, sowie eine saure syrupartige Substanz, welche, n Säuren behandelt, Tyrosin liefert und einen krystallinischen Stoff vom Geruch d

[1]) Ber. **7**, 1593; **8**, 336, 722, 1517; **9**, 299. — Dieser Band S. 92, 113, 115, 123, 1
[2]) Ber. **9**, 139.
[3]) Ann. Chem. Pharm. **63**. 264.
[4]) Ebendaselbst **69**, 30.
[5]) Ann. Chim. et Phys., Troisième Série, T. 11.

Fäces. Nach Brendecke[1]) liefert das Fibrin bei der Fäulniss bei Luftabschluss Essig-, Butter-, Baldrian- und Caprinsäure an Ammoniak gebunden. Während, wie man sieht, diese Arbeiten zunächst die Kenntniss der Fäulnissproducte bezweckten, hat Pasteur in Fortsetzung seiner bahnbrechenden Untersuchung über die Gährung das ursächliche Moment dieses Processes festgestellt. Wie bei der Alkoholgährung der dabei stattfindende chemische Vorgang eine den Lebensprocess der Hefe begleitende Erscheinung ist und eine Alkoholgährung ohne gleichzeitige Organisation, Entwickelung und Vermehrung, d. h. ohne fortgesetztes Leben der Hefezelle nicht stattfindet, so ist auch die Fäulniss ohne gleichzeitige Entwickelung und Vermehrung von specifischen organisirten Fermenten unmöglich. „Il y a nutrition du ferment aux dépens de la matière fermentante et qu'aussi longtemps que dure la vie de l'infusoire, aussi longtemps dure un transport de matière de la substance qui fermente à celle qui provoque sa transformation." (Pasteur, Compt. rend. **56**, 419.)

Nach Pasteur[2]) wird die Fäulniss bestimmt durch organisirte Fermente aus dem Genus Vibrio. Die von Ehrenberg beschriebenen 6 Arten: 1. Vibrio lineola, 2. Vibrio tremulans, 3. Vibrio subtilis, 4. Vibrio Rugula, 5. Vibrio prolifer, 6. Vibrio bacillus, deren genetische Beziehung oder Identität Pasteur nicht discutiren will, sind 6 Arten thierischer Fäulnissfermente. Alle diese Vibrionen können leben ohne freien Sauerstoff; im Gegentheil, in Berührung mit diesem Gase gehen sie zu Grunde, wenn sie nicht durch irgend etwas vor der directen Einwirkung des Sauerstoffs geschützt werden. In Betreff des Modus, nach welchem der Fäulnissprocess vor sich geht, sagt Pasteur Folgendes (Compt. rend. **56**, 1190):

„Zweierlei ist bei der Fäulniss zu unterscheiden: entweder befindet sich die faulende Flüssigkeit in einem Gefässe, wo der Zutritt der Luft ausgeschlossen ist, oder in einem offenen, wo sie der Einwirkung der Atmosphäre mehr oder weniger exponirt ist. Betrachtet man zuerst den ersten Fall, so ist es allgemein bekannt, dass die Fäulniss, um bemerkbar zu werden, eine gewisse Zeit braucht. Diese Zeit variirt je nach der Temperatur und der neutralen, sauren oder alkalischen Reaction der Flüssigkeit. Unter den günstigsten Umständen sind mindestens 24 Stunden dazu nothwendig. In dieser ersten Periode vollzieht sich eine innere Bewegung, deren Zweck es ist, allen in der Flüssigkeit gelösten Sauerstoff zu verzehren und ihn durch Kohlensäure zu ersetzen. Das totale Schwinden des Sauerstoffs, wenn die Flüssigkeit neutral oder schwach alkalisch ist, wird im Allgemeinen bewirkt durch die Entwickelung der kleinsten Infusorien und zwar des Monas crepusculum und Bacterium termo. Dabei wird eine schwache Trübung bemerkbar, indem diese kleinen Organismen in jeder Richtung in der Flüssigkeit sich fortbewegen. Sobald nun die erste Wirkung — Entziehung des in der Flüssigkeit gelösten Sauerstoffs — vollzogen ist, geben sie zu Grunde, fallen einem Niederschlage gleich zu Boden des Gefässes, und wenn durch Zufall die Flüssigkeit keine fruchtbaren Keime der unten zu nennenden Fermente enthielt, so verbleiben sie unbestimmt lange in diesem Zustande und es tritt keine Fäulniss — keine Gährung ein. Dieser Fall ist selten,

---

[1]) Gerhardt, Org. Chem. **4**, 403.
[2]) Compt. rend. 1863. **56**, 1189.

doch habe ich mehrere Beispiele davon gesehen. Der häufigste Fall ist der, dass, nachdem der gelöste Sauerstoff verschwunden ist, die Fermentvibrionen, die zu ihrem Leben des Sauerstoffs nicht bedürfen, sich zu zeigen beginnen. Die Fäulniss offenbart sich dann sofort und schreitet in dem Maasse vorwärts, als die Vibrionen sich vermehren.

Es geht hieraus hervor, dass die Berührung mit der Luft für die Entfaltung der Fäulniss nicht durchaus nothwendig ist. Im Gegentheil, wenn in der fäulnissfähigen Flüssigkeit der gelöste Sauerstoff durch die Thätigkeit besonderer Wesen nicht gleich Anfangs entzogen wird, kann keine Fäulniss eintreten. der Sauerstoff hätte die Anfangs sich zu entwickeln strebenden Vibrionen getödtet.

Wie gestaltet sich nun die Fäulniss bei Luftzutritt?

Wird die lufthaltige Flüssigkeit der atmosphärischen Einwirkung ausgesetzt, z. B. in einem weiten offenen Gefässe, so vollzieht sich hier zunächst der gleiche Vorgang — nämlich die Entziehung des in der Flüssigkeit gelösten Sauerstoffs. Der einzige Unterschied besteht nur darin, dass die Bacterien u. s. w. nach der Sauerstoffentziehung nicht zu Grunde gehen, im Gegentheil sie vermehren sich an der Oberfläche der Flüssigkeit bis ins Unendliche, weil sie da in Berührung mit der Luft sind. Sie gestalten sich oben zu einem zarten Häutchen, das sich allmählich verdichtet, sodann in Fetzen zu Boden des Gefässes fällt, um sich neu zu gestalten, wieder zu fallen u. s. w. Dieses Häutchen, dem sich gewöhnlich noch verschiedene Mucors und Mucedineen gesellen, hindert die Auflösung des Sauerstoffs in der Flüssigkeit und so macht sie die Entwickelung der Fermentvibrionen möglich. Für die letzteren ist dann das Gefäss wie vor der Sauerstoffzufuhr verschlossen. Sie können sich sogar in dem auf der Oberfläche schwimmenden Häutchen vermehren, da sie hier vor der zu directen Einwirkung des atmosphärischen Sauerstoffs durch die Bacterien und Mucors geschützt sind. Die faulende Flüssigkeit wird auf die Weise Sitz zweier ganz verschiedener chemischer Processe, die in directem Verhältniss zu der physiologischen Thätigkeit der zwei Arten darin sich ernährender organisirter Wesen stehen. Einerseits bedingen die Vibrionen, die ohne Zuthun des atmosphärischen Sauerstoffs leben, im Innern der Flüssigkeit die Fermentationsvorgänge, d. h. sie verwandeln die stickstoffhaltige Materie in einfachere, jedoch noch complicirt zusammengesetzte Producte. Andererseits verbrennen die Bacterien (oder Mucors) diese Producte und führen sie in die einfachsten binären Verbindungen, wie Wasser, Ammoniak und Kohlensäure, über."

Bei der Zersetzung des Eiweisses durch Digestion mit Pankreas haben wir streng zu unterscheiden zwischen der Zersetzung des Eiweisses durch das ungeformte Pankreasferment und der durch organisirte, schon intra vitam in der Drüse vorhandenen Fermente. In Betreff der ersteren sind die einzig bis jetzt zuverlässigen, in der Literatur verzeichneten die von Hüfner[1]). Er fand, dass Fibrin mit Wasser und dem ungeformten Pankreasferment unter Ausschluss aller niedrigen Organismen, in einem eigens dazu construirten Apparate digerirt, zum grossen Theil in Lösung geht, worin sich ausser einem leimartigen Körper auch Leucin mit Tyrosin finden.

[1]) Journ. f. prakt. Chem. **10**, 1.

Diese Lösung ist stets ganz geruchlos, es findet sich also darin kein Indol oder flüchtige Fettsäuren; auch werden nie dabei brennbare Gase entwickelt — sie bestehen nur aus Kohlensäure und Stickstoff, der etwa vorhandene Sauerstoff wird bei diesem Processe fast total verbraucht. Ganz anders gestaltet sich das Bild, wenn statt des reinen, ungeformten Ferments die Drüse selbst oder auch der Drüsensaft mit Proteïnsubstanzen an der Luft digerirt wird. Ich habe im Laufe mehrerer Jahre sehr viele solche Verdauungsversuche mit Pankreas und den verschiedenen Eiweissstoffen angestellt. Das Bild ist in allen Fällen ziemlich das gleiche. Wird Eiweiss oder Gelatine mit dem 10- bis 20fachen Gewichte Wasser und frisch präparirtem, fein geschnittenem Pankreas bei 40° C. digerirt, so beobachtet man in der Regel in der 4. bis 7. Stunde, dass die Drüsenstückchen, die Anfangs zu Boden des Gefässes fallen, sich einzeln auf die Oberfläche der Flüssigkeit erheben, bis allmählich die ganze Drüsensubstanz auf der Oberfläche schwimmt. Gleichzeitig zeigt ein Tropfen der Flüssigkeit unter dem Mikroskope Anfangs sehr spärliche, meist kugelige, doch auch wenige stäbchenförmige bewegliche Gebilde und die Flüssigkeit nimmt einen schwach fauligen Geruch an, der mit jeder Stunde intensiver wird. Gleichzeitig vermehren sich die organisirten Fermente ungeheuer. Das Eiweiss geht in Lösung, die Flüssigkeit wird trübe und die lebhafte Gasentwickelung zeigt an, dass Fäulniss in vollem Gange ist. Die Reaction der Flüssigkeit bleibt stets während dieser Zeit schwach, aber deutlich sauer. Nach Lieberkühn[1]) reagirt das lebende Pankreas, mit Alizarin-Natrium geprüft, sauer. Bei meinen Versuchen bediente ich mich Anfangs der Bauchspeicheldrüse von Hunden, später ausschliesslich vom Rinde. Ich habe öfters gesehen, dass sofort nach dem Tode herausgenommene Drüsen vom Ochsen oder Kalb schwach alkalisch oder neutral auf Lackmuspapier reagirten. Mehrere Stunden nach dem Tode röthet wohl jedes Pankreas Lackmuspapier. Wird Eiweiss oder Leimlösung gleichgültig mit welcher neutral oder sauer reagirten Drüse beschickt, so reagirt die Flüssigkeit nach mehrstündiger Digestion stets sauer. Diese Reaction geht erst durchschnittlich etwa nach 40 Stunden in die alkalische über, welche nun auch constant bleibt, mag die Digestion auch wochenlang dauern. In Folgendem will ich nun die bei diesem Processe isolirten Producte beschreiben. Ich suchte stets so viel als möglich auch ihre Quantität zu bestimmen. Die erhaltenen Zahlen können allerdings, wie dies schon durch die Natur derartiger Versuche bedingt ist, keine absolute Genauigkeit haben. Allein im Mittel aus mehreren Versuchsreihen und bei verschiedener Zeitdauer wurden doch Zahlen erhalten, die die richtige Erkenntniss der complexen Processe, die wir Fäulniss nennen, in mancher Hinsicht aufzuklären geeignet sind.

## Zersetzung der Gelatine bei der Fäulniss mit Pankreas.

Bereits in meiner ersten Mittheilung über diesen Gegenstand[2]) habe ich angeführt, dass gewöhnlicher Tischlerleim mit dem 10- bis 15fachen Gewicht Wasser und frischem Ochsenpankreas nach etwa 24stündiger Digestion bei 40 bis 45° C.

[1]) Ber. d. Marburger naturwissenschaftl. Gesellsch. 1874, S. 78.
[2]) Ber. 7, 1593. — Dieser Band S. 92.

unter Gasentwickelung in Leimpeptone, Leucin und Glycocoll übergeht. Versuche, die ich gleichzeitig unter gleichen Bedingungen mit Gelatine anstellte, zeigten, dass die letztere Substanz erst nach längerer, meist 48stündiger Digestion Glycocoll lieferte. In beiden Fällen bildete sich kein Indol. Dagegen enthielt constant die nach Beendigung des Versuches zum Sieden erhitzte, von dem coagulirten Eiweiss abfiltrirte und auf dem Wasserbade concentrirte Verdauungsflüssigkeit stets reichliche Mengen von an flüchtige Fettsäuren gebundenem Ammoniak. Um nun den Verlauf der Zersetzung in dessen einzelnen Phasen zu studiren, wurden folgende Versuche angestellt:

1. Versuch. In einem emaillirten eisernen Kochtopf, der in einem zweiten grösseren als Wasserbad dienenden aufgehängt war, wurden 300 g feinster, aus der Fabrik in Höchst bezogener Gelatine in 6000 g destillirten Wassers gelöst und dann 100 g sorgfältig präparirtes, klein geschnittenes Ochsenpankreas zugesetzt, hierauf das Ganze lose zugedeckt und bei 45° C. sich selber überlassen. Die zu diesem und den folgenden Versuchen dienende Gelatine verlor bei 115° C. bis zu constantem Gewichte getrocknet 16.97 Proc. Wasser und die trockene Substanz enthielt nur 1.62 Proc. Asche. Der Eiweissgehalt des Pankreas ist in allen meinen Versuchen nach Abzug des Bindegewebes zu 15 Proc. angenommen. Es waren danach im Ganzen 260 g trockener Proteïnsubstanz der Verdauung unterworfen. Nach 17 Stunden wurde die Verdauungsflüssigkeit zum Sieden erhitzt, filtrirt, das Filtrat in einer tubulirten Retorte mit 100 g concentrirter Schwefelsäure versetzt und destillirt. Das erhaltene saure Destillat, 4300 ccm, wurde mit normaler Natronlauge, wovon 20 ccm 0.2884 g Na enthielten, titrirt. 20 ccm dieser Natronlösung brauchten zur Neutralisation 203 ccm des Destillates. Hierauf wurde das gesammte Destillat mit Natronlauge neutralisirt und auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft, sodann das Salz mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt, die abgeschiedene ölige Säure mit einer Pipette abgehoben und destillirt. Bei Weitem der grösste Theil der Säure ging nun zwischen 160 bis 178° über, welche Fraction nach nochmaliger Rectification in das Silbersalz übergeführt wurde. Das über Schwefelsäure getrocknete Silbersalz enthielt 51.82 Proc. Silber. Das valeriansaure Silber verlangt 51.67 Proc. Ag. Die hier entstandene Säure war demnach der Hauptmenge nach nur Valeriansäure, deren Menge aus dem Titer berechnet 28.06 g oder 11 Proc. von dem Gewichte der angewandten Gelatine beträgt. Der Retortenrückstand wurde, um die Schwefelsäure zu entfernen, mit einer Lösung von 350 g krystallisirten Aetzbaryts gefällt und das Filtrat von $SO_4Ba$ zur Verjagung des Ammoniaks etwa eine halbe Stunde im Sieden erhalten, hierauf der überschüssige Baryt durch genaue Neutralisation mit Schwefelsäure entfernt und das Filtrat auf dem Wasserbade eingedampft. In dem syrupösen Rückstande erfolgte weder beim Stehen in der Kälte, noch nach Zusatz von absolutem Alkohol irgend welche Krystallisation. Die ganze Masse hatte alle Eigen schaften des Leimpeptons. Sie war weder durch basisches Blei, noch durch Sublimat lösung fällbar, leicht löslich in Weingeist, nur in absolutem Alkohol und Aethe unlöslich. Ihre Lösung mit Natronlauge und Kupfervitriollösung versetzt zeigte di charakteristische rothe Biuretreaction, und zwar bedurfte es grösserer Mengen vo Kupfersulfat, damit die schön rothe Färbung einen Stich ins Violette bekam. Di

Leimpeptone, wie ich sie später nach 24 stündiger Digestion, Auflösen des mit absolutem Alkohol erzeugten Niederschlages in wenig Wasser und wiederholter Fällung mit Alkohol bereitete, stellen in trockenem Zustande ein weiss gelbliches, hygroskopisches Pulver dar und ergaben bei der Analyse folgende Zahlen:

Peptone aus Tischlerleim bei 115° C. getrocknet.

0.3953 der Substanz hinterliessen 0.0138 g Asche oder 3.49 Proc.

0.2201 der Substanz oder 0.2194 aschefrei gaben mit chromsaurem Blei und vorgelegtem Kupfer verbrannt 0.1346 g $H_2O$ und 0.3313 g $CO_2$.

0.3372 oder 0.3255 aschefrei gaben 46 ccm Ngas bei 19.4° C. und 713 Bst.

Pepton aus Osseïn.

0.2498 der Substanz hinterliessen im Platintiegel geglüht 0.0028 g oder 1.12 Proc. Asche.

Ferner 0.2542 der Substanz oder 0.2514 aschefrei gaben verbrannt 0.1658 $H_2O$ und 0.3706 $CO_2$.

0.2802 oder 0.2782 aschefrei gaben 39 ccm Ngas bei 715 Bst. und 16° C.

oder in Procenten

| | aschefrei Leimpepton | Pepton aus Osseïn |
|---|---|---|
| C | 41.10 | 40.16 |
| H | 6.81 | 7.32 |
| N | 15.27 | 15.46 |

Kistiakowsky[1]) fand im Mittel für die

Pankreaspeptone aus Fibin und für die Pankreaspeptone aus Pflanzencaseïn (Pflanzeneiweiss aus süssen Mandeln)

| | Pankreaspeptone aus Fibin | Pankreaspeptone aus Pflanzencaseïn |
|---|---|---|
| C | 42.72 | 43.39 |
| H | 7.13 | 7.04 |
| N | 15.92 | 15.85 |
| S | 1.03 | 1.02 |

Die Darstellungsmethode des Peptons bietet zu wenig Garantie für dessen Reinheit, und die Sicherheit, ein wirklich chemisches Individuum analysirt zu haben, ist zu gering. Ich will es daher offen lassen, ob die pankreatischen Leimpeptone mit denen aus Eiweiss identisch oder von ihnen verschieden sind. Ihrer procentischen Zusammensetzung nach scheinen sie sich sehr nahe zu stehen.

Da ich nach 17 stündiger Digestion von Gelatine mit Pankreas nur Leimpeptone und valeriansaures Ammoniak, aber kein Leucin und Glycocoll erhielt, wiederholte ich ceteris paribus den obigen Versuch, nur mit dem Unterschiede, dass die Verdauungsflüssigkeit drei Tage lang ununterbrochen bei 40° C. digerirt wurde. Die hierauf durch Leinen filtrirte Flüssigkeit wurde mit 100 g concentrirter Schwefelsäure versetzt und aus einer tubulirten Retorte destillirt. Das erhaltene Destillat betrug 4110 ccm und es wurden davon 64 ccm zur Neutralisation von 20 ccm der obigen normalen Natronlauge verbraucht. Aus dem Retortenrückstande wurden die $SO_4H_2$ durch 350 g Aetzbarytlösung entfernt und das Filtrat wie im ersten Versuche behandelt. Beim Concentriren der schwach sauren Lösung auf dem Wasserbade schieden sich schon in der Wärme farblose, harte Krystalle ab; dessen ungeachtet

[1]) Pflüger's Archiv 9, 450.

wurde die Flüssigkeit bis zur Syrupsconsistenz verdunstet und noch warm mit etwa dem doppelten Volumen absoluten Alkohols vermischt. Es erfolgte eine reichliche Krystallisation eines Körpers, der alle Eigenschaften des Glycocolls besass. Nach 24 stündigem Stehen wurden die Krystalle abfiltrirt und mit wenig Alkohol ausgewaschen. In der Mutterlauge davon fand sich ausser den Leimpeptonen keine andere krystallinische Substanz. Um die Menge des so entstandenen Glycocolls zu bestimmen, wurde das mit Alkohol gewaschene Product in Wasser gelöst und durch Kochen mit $CO_3Cu + Cu(OH)_2$ in das Kupfersalz übergeführt. Das aus der heiss filtrirten Lösung auskrystallisirte Glycocollkupfer wurde auf dem Aspirator filtrirt, zwischen Fliesspapier gepresst und bei 110° C. bis zu constantem Gewichte getrocknet und gewogen. Es wurden so 27.5 g der Kupferverbindung, entsprechend 20.35 g Glycocoll oder 7.38 Proc. erhalten.

Das die flüchtigen Fettsäuren enthaltende Destillat, mit Natronlauge neutralisirt und auf dem Wasserbade verdunstet, setzte bei hinreichender Concentration Krystalle ab, die durch ihre Krystallform als essigsaures Natrium erkannt wurden. Sie wurden auf ein Filter gebracht und die davon filtrirte Lauge mit $SO_4H_2$ zersetzt. Die abgeschiedenen öligen Säuren bestanden aus Buttersäure und Valeriansäure. Eine genaue Gewichtsbestimmung war bei der Schwierigkeit, die kleinen Mengen zu trennen, nicht gut ausführbar. Die Hälfte der Gesammtsäure bestand aus Essigsäure, während Butter- und Valeriansäure etwa zu gleichen Theilen zur anderen Hälfte darin enthalten waren. Wird der Säuregrad auf Buttersäure bezogen, so wurden im Ganzen 70.6 g Säure oder 27.1 Proc. erhalten.

Ich will hier gleich noch einen dritten Versuch anführen, der über den Grad der Zersetzung der Gelatine noch mehr Aufklärung giebt. 300 g Gelatine und 40 g Ochsenpankreas, im Ganzen 250 g trockene Substanz wurden mit 6 kg destillirten Wassers vier Tage lang bei 40° C. digerirt, hierauf die Verdauungsflüssigkeit durch Leinen filtrirt, in einer tubulirten Retorte mit einer heissen Lösung von 300 g Aetzbaryt versetzt und destillirt. Das Destillat, in concentrirter Salzsäure aufgefangen, diente zur Bestimmung des gebildeten Ammoniaks. Die Anfangs sehr heftige $NH_3$-Entwickelung wird, wenn etwa ein Liter der Flüssigkeit abdestillirt worden, sehr schwach, obgleich auch dann noch durch die übergehende Flüssigkeit rothes Lackmuspapier blau wird. Es wurden im Ganzen 2915 ccm des Destillates erhalten. 5 ccm des Destillates wurden mit Platinchlorid gefällt, zur Trockne verdunstet, in dem erhaltenen Platinsalmiak das Pt bestimmt und daraus das Gewicht des N resp. $NH_3$ berechnet.

Das Gewicht des erhaltenen Platins betrug 0.2374 g = 0.03359 N oder im Ganzen 19.58 g entsprechend 23.77 g $NH_3$ oder 9.48 Proc. von dem Gewichte der angewandten Gelatine. Der barythaltige Retortenrückstand wurde mit Wasser verdünnt und das Baryum mit 100 g $SO_4H_2$ gefällt. Das ausgewaschene Filtrat von Neuem zur Entfernung der flüchtigen Säuren destillirt. Das erhaltene Destillat betrug 2310 ccm, davon wurden 42 ccm zur Neutralisirung der Normalnatronlauge verbraucht. Da das Gewicht der flüchtigen Fettsäuren ziemlich die gleiche Zusammensetzung wie im obigen Versuche hatte, so würde die Säuremenge auf Buttersäure bezogen 60.5 g oder 24.2 Proc. betragen. Die nunmehr von flüchtigen Fettsäuren

und Ammoniak befreite Verdauungsflüssigkeit wurde zur Entfernung der überschüssig zugesetzten $SO_4H_2$ mit $CO_3Pb$ gekocht, aus dem Filtrate das gelöste Blei mit $SH_2$ ausgefällt und das Schwefelbleifiltrat auf dem Wasserbade bis zu beginnender Krystallisation verdunstet, hierauf noch warm mit absolutem Alkohol vermischt, wobei beim Erkalten die Flüssigkeit zu einem dicken Krystallbrei von reinem Glycocoll erstarrte. Nach 12 stündigem Stehen wurden die Krystalle auf einem Aspirator filtrirt, mit Alkohol gewaschen und im Exsiccator über $SO_4H_2$ getrocknet. Das Gewicht des so erhaltenen Glycocolls betrug 31 g oder 12.2 Proc. Die Krystalle wurden noch einmal aus Wasser umkrystallisirt und ergaben bei der Kohlenwasserstoffbestimmung folgende Zahlen:

0.2346 der Substanz gaben 0.2718 $CO_2$ und 0.1413 g $H_2O$ oder in Procenten:

| Gefunden: | Berechnet für $C_2H_5NO_2$: |
|---|---|
| C 31.60 | C 32.00 |
| H 6.69 | H 6.66 |

Die vom Glycocoll abfiltrirte Mutterlauge gab keine weitere Krystallisation. Sie bestand wesentlich aus Peptonen, die durch die Biuretreaction erkannt wurden. Der Gesammtrückstand betrug trocken übrigens nur 48.5 g, wobei auch die Asche mit inbegriffen ist.

Um mich zu überzeugen, ob in den aus der Verdauungsflüssigkeit durch Destillation mit Aetzbaryt erhaltenen flüchtigen Producten ausser $NH_3$ auch noch andere flüchtige organische Basen enthalten seien, habe ich die salzsaure Lösung zur Trockne verdampft und hierauf mit absolutem Alkohol in der Kälte extrahirt. Neben etwas Salmiak wurde nach dem Verdunsten der alkoholischen Lösung in geringer Menge auch ein in Nadeln krystallisirendes Salz erhalten, welches, nachdem es durch wiederholte Krystallisation von Salmiak getrennt worden, in das Platindoppelsalz verwandelt wurde. Unter dem Mikroskope zeigte sich dieses letztere vollständig von Platinsalmiak frei, als in schönen klinorhombischen Prismen krystallisirend und ergab bei der Elementaranalyse folgende Zahlen:

0.3528 der Substanz mit chromsaurem Blei verbrannt gaben 0.1341 $CO_2$ und 0.1088 $H_2O$.

Ferner 0.2696 g hinterliessen beim Glühen 0.1027 g Pt, oder in Procenten gefunden: C 10.37, H 3.42 und Pt 38.09 Proc.

Aus diesen Zahlen lässt sich keine Formel berechnen. Sie stehen zwischen denen des Propylamin- und Aethylaminplatinsalmiaks. Die Formel $(C_3H_9N)_2\ 2\ HClPtCl_4$ verlangt C 13.55, H 3.74, Pt 37.27. Die des Aethylamins $(C_2H_7N)_2\ 2\ HClPtCl_4$ aber C 9.55, H 3.05, Pt 39.2. Zu einer Trennung der beiden Basen oder weiteren Analysen reichte das Material nicht mehr aus. Jedenfalls geht hieraus hervor, dass bei der Fäulniss der Gelatine mit Pankreas in minimaler Menge flüchtige, organische Basen entstehen.

Ein anderer genau so ausgeführter Versuch, nur mit dem Unterschiede, dass 500 g Gelatine mit 150 g Ochsenpankreas, was 432 g trockener Substanz entspricht, fünf Tage lang bei 40° C. digerirt wurden, ergab folgende Zahlen: Das Barytdestillat betrug 3430 ccm. Davon gaben 10 ccm bei der $NH_3$-Bestimmung 1.5122 g

Platin, daraus berechneter N = 32.51 g und 39.51 $NH_3$ oder 9.1 Proc. $NH_3$. Das Schwefelsäuredestillat = 3590 ccm. Davon 32 ccm zur Sättigung von 20 ccm der Normalnatronlauge verbraucht. Das Säuregemisch erwies sich als zu etwa $^2/_3$ aus Essigsäure bestehend. Der Rest war Butter- und Valeriansäure und zwar vorwiegend die letztere. Wird der Säuregrad im Mittel auf Buttersäure bezogen, so würde dies 123.4 g oder 28.5 Proc. Buttersäure entsprechen. Diese Zahl ist jedenfalls etwas zu hoch, da wie erwähnt $^2/_3$ der flüchtigen Säuren Essigsäure waren. Das Gewicht des auskrystallisirten und über $SO_4H_2$ getrockneten Glycocolls betrug 39.4 g oder 9.13 Proc. Die Mutterlauge des Glycocolls bestand aus Peptonen. Ich erhielt keine weitere Krystallisation. Um zu sehen, ob auch in diesem Versuche ausser $NH_3$ noch andere flüchtige Basen gebildet wurden, habe ich die salzsaure Lösung zur Trockne verdunstet und nach mehrfacher Krystallisation aus absolutem Alkohol ein in Nadeln krystallisirendes salzsaures Salz, im Ganzen gegen 1 g betragend, erhalten, das, mit Platinchlorid gefällt, ein schön krystallisirendes, in heissem Wasser schwer lösliches Chloroplatinat lieferte. Ueber $SO_4H_2$ getrocknet ergab dieses Platindoppelsalz bei der Verbrennung folgende Zahlen:

Angewandte Substanz = 0.2106 g ergaben 0.0982 g $CO_2$ und 0.0688 g $H_2O$.
Ferner 0.3294 g der Substanz gaben 15.5 ccm N-Gas bei 713 Bst. und 12°.
Und 0.1600 g hinterliessen beim Glühen 0.0596 g Pt.

| Oder in Procenten | | Nach der Formel $(C_3H_9N)_2\,2\,HClPtCl_4$ ber. | |
|---|---|---|---|
| C | 12.71 Proc. | C | 13.35 Proc. |
| H | 3.6 „ | H | 3.74 „ |
| N | 5.2 „ | N | 5.27 „ |
| Pt | 37.25 „ | Pt | 37.27 „ |

Aus diesen Zahlen ergiebt sich, dass die Base Propylamin oder Trimethylamin war, mit geringen Mengen einer kohlenstoffärmeren Base vermengt. Die flüchtigen Fettsäuren, als Buttersäure in Rechnung gebracht, würden 24.2 g Buttersäure 4.6 g $NH_3$ zur Neutralisation erfordern. Unter der Annahme nun, dass der Rest des an flüchtige Fettsäuren nicht gebundenen $NH_3$ als $CO_3(NH_4)_2$ in der faulenden Flüssigkeit enthalten war, habe ich im Versuche Nr. 3 für 100 Theile Gelatine nach viertägiger Fäulniss als deren Zersetzungsproducte in Procenten erhalten:

| | |
|---|---|
| 9.48 | $NH_3$ |
| 24.2 | flüchtige Fettsäuren |
| 12.2 | Glycocoll |
| 19.4 | Peptone |
| 6.45 | $CO_2$ |
| Summa 71.73 | Proc. in Lösung gebliebener Stoffe |

und im Versuch Nr. 4

| | |
|---|---|
| 9.1 | $NH_3$ |
| 28.5 | flüchtige Fettsäure |
| 9.13 | Glycocoll |
| 4.6 | $CO_2$ |
| Summa 51.33 | Proc. |

Das Gewicht der Peptone ist hier nicht bestimmt worden, doch war ihre Menge viel grösser als im vorigen Versuch. Es ergiebt sich hieraus, dass nach 4 bis 5

Tagen nur 19.4 Proc. der angewandten Gelatine als Peptone, d. h. als noch etwa zu zersetzender Rückstand auftraten; ferner mehr als $^1/_3$ in Form von $NH_3$ an flüchtige Fettsäuren (Essig-, Butter-, Valeriansäure) gebunden auftritt, $^1/_{10}$ als Glycocoll und der Rest wohl hauptsächlich als $CO_2$ und $NH_3$ sich verflüchtigt, neben den anderen von Kunkel bei der Fäulniss von Eiweiss mit Pankreas analysirten Gasen.

Leucin wurde in allen diesen Versuchen nicht erhalten. Die Ursache hiervon wird wohl zunächst in dem Umstande liegen, dass aus dem Gelatinemolekül überhaupt weniger Leucin abgespalten werden kann, als aus dem Eiweiss. Zweitens aber deshalb, weil, wie später nachgewiesen wird, das Leucin bei der Fäulniss weiter oxydirt wird. Auffallend ist hier die grosse Menge des entstandenen Glycocolls. Braconnot[1]), der überhaupt zuerst durch Auflösen von 12 g Gelatine in 20 g concentrirter Schwefelsäure, und 5 stündiges Kochen der Lösung mit 100 g Wasser, Glycocoll erhielt, giebt die Grösse der Ausbeute nicht an. In meinen ersten Versuchen erhielt ich nach 24 stündiger Digestion von Tischlerleim mit Pankreas bei 40° C. neben Leucin 4 Proc. Glycocoll. Nach 8 tägiger Digestion von Gelatine mit Pankreas habe ich noch immer Glycocoll unter den Zersetzungsproducten isoliren können. Durch längeres Stehen des faulenden Gemisches — 5 bis 8 Tage — wird die Menge des syrupösen Rückstandes, der wohl dann nur aus durch die Biuretreaction leicht kenntlichen Leimpeptonen besteht, immer geringer, ohne jedoch ganz zu verschwinden. Gleichzeitig vermindert sich auch die Menge der Valeriansäure, so dass die flüchtigen Fettsäuren fast nur aus Essigsäure bestehen.

So erhielt ich in einem Versuche von 300 g Gelatine und 100 g Ochsenpankreas nach sechs Tage langem Digeriren bei 40° C. folgende Zahlen: Nach Beendigung des Versuches gab die Flüssigkeit mit 100 g concentrirter $SO_4H_2$ destillirt 2725 ccm des Destillates. Davon wurden zur Neutralisation von 20 ccm der Normalnatronlauge 30.4 ccm verbraucht. Aus der säure- und $NH_3$ freien Lösung erhielt ich 23 g Glycocoll oder 8.84 Proc.

In einem anderen Versuch, unter den gleichen Bedingungen und mit den gleichen Mengen ausgeführt, wurden 3475 ccm des Destillates mit flüchtigen Säuren erhalten. Davon wurden 37 ccm zur Neutralisation von 20 ccm der Normalnatronlauge verbraucht. Dabei erhielt ich 28 g Glycocoll oder 10.7 Proc. Die die flüchtigen Fettsäuren enthaltenden Destillate dieser beiden Versuche wurden, vereinigt mit Natronlauge neutralisirt, auf dem Wasserbade bis zur Syrupsconsistenz eingedampft und von einer in geringen Mengen flockig abgeschiedenen Substanz filtrirt. Beim Erkalten der Lösung krystallisirte reines essigsaures Natrium aus, in den für diese Substanz charakteristischen durchsichtigen, rhombischen Säulen, deren spitze Seitenkanten abgestumpft sind. Die Krystalle wurden auf einem Aspirator filtrirt, eine Probe davon nur einmal aus absolutem Alkohol umkrystallisirt und analysirt. 2.419 des lufttrockenen Salzes verloren nach zweistündigem Trocknen bei 110° C. 0.9454 $H_2O$ oder 39.09 Proc. Die Formel $C_2H_3O_2Na + 3H_2O$ verlangt 39.78 Proc. Ferner gaben 0.2207 g des bei 110° C. getrockneten Natronsalzes im Platintiegel mit $SO_4H_2$ eingedampft und geglüht 0.1903 g $SO_4Na_2$, entsprechend 27.93 Proc. Na. Die

[1]) Ann. de Chim. et Phys. **13**, 1820.

Formel $C_2H_3O_2Na$ verlangt 28.04 Proc. Na. Die Gesammtmenge des auskrystal sirten lufttrockenen Salzes $C_2H_3O_2Na + 3H_2O$ betrug 91 g.

Dieses Verfahren zur Trennung der Essigsäure von den höheren flüchtigen Fe säuren habe ich in allen oben angeführten Versuchen angewandt, da es sich das einfachste und zweckmässigste erwies.

Die von dem abgeschiedenen essigsauren Natrium abfiltrirte Mutterlauge enthi dann die Salze der kohlenstoffreicheren Fettsäuren, welche mit $SO_4H_2$ zerlegt, ül Chlorcalcium getrocknet und rectificirt wurden. Das Säuregemisch bestand : Valerian- und Buttersäure; Propionsäure konnte nicht sicher nachgewiesen werd Das Gesammtgewicht der rectificirten Säuren war 28 g.

Wird der Säuregrad im ersten Versuche auf Essigsäure bezogen, so wären den 2725 ccm 67.4 g Essigsäure oder 25.9 Proc. von dem Gewichte der Gelati In den 3475 ccm des zweiten Destillates würde das Gewicht der Essigsäure 70. oder 27.1 Proc. der Gelatine sein. In Wirklichkeit waren etwa $^1/_4$ der Säu Butter- oder Valeriansäure. Man kann hier annehmen, dass etwa 40 Proc. ( Gelatine zu Ammoniaksalzen der flüchtigen Fettsäuren umgewandelt wurden.

In allen oben angeführten Versuchen mit Gelatine ist des Auftretens ei aromatischen Spaltungsproductes keine Erwähnung geschehen. Weder Tyrosin nc Indol wurden aus Leim oder Gelatine erhalten und doch war man, nach den V suchen Schlieper's[1]) über die Zersetzungsproducte des Leims durch Chromsäu zu der Annahme berechtigt, dass das Leimmolekül, wenn auch vielleicht nur zum g ringen Theil, aus aromatischen Gruppen aufgebaut ist. Schlieper erhielt durch O dation des Leims vermittelst Chromsäure Essig-, Valerian- und Benzoësäure. Ferner Bl säure, Valeronitril, Valeracetonitril und ein nach Zimmet riechendes, schweres C welches aber nicht weiter untersucht wurde. Ich will in Folgendem einen Vers anführen, der allem Anscheine nach zu der Annahme berechtigt, dass auch bei Fäulniss der Gelatine ein aromatischer Körper entsteht.

300 g Gelatine und 100 g Ochsenpankreas wurden mit 4000 g $H_2O$ fünf T lang bei 40° C. digerirt. Hierauf die zum Sieden erhitzte Flüssigkeit filtrirt. Das Folge der durch die Filterporen übergehenden Bacterien etwas trübe Filtrat wurde 200 g concentrirter $SO_4H_2$ destillirt. Das Destillat = 1620 ccm bestand wesent aus Essigsäure. 20 ccm der Natronlauge erforderten 23 ccm des Destillates Neutralisation, was auf Essigsäure bezogen 53 g oder 20.7 Proc. entsprechen wü

Ein gleichzeitig ebenso angestellter Versuch, nur mit dem Unterschiede, die Gelatine in 6 Liter Wasser gelöst und die filtrirte Verdauungsflüssigkeit 100 ccm $SO_4H_2$ destillirt wurde, gab 3850 ccm des Destillates, wovon 47 ccm Neutralisation von 20 ccm Normalnatronlauge nöthig waren. Auch hier ging hau sächlich Essigsäure über, worauf der Säuregehalt bezogen, 59.4 oder 23.3 Pr entsprechen würde.

Die schwefelsauren Rückstände dieser beiden Versuche wurden vereinigt u mit überschüssigem Aetzbaryt gefällt. Das Filtrat $^1/_4$ Stunde lang im Sieden e halten, um das Ammoniak auszutreiben; sodann das überschüssige Baryumhydr

[1]) Ann. Chem. Pharm. **59**, 23.

durch $SO_4H_2$ entfernt und der Ueberschuss der letzteren durch Bleizuckerlösung ausgefällt. Nach Entfernung des überschüssigen Bleies durch $SH_2$ wurde die Lösung auf dem Wasserbade concentrirt. Ich bemerkte hierbei, dass sie, mit Natronlauge versetzt, noch immer Ammoniak entwickelte, was ich der nicht vollständigen Verjagung desselben durch Kochen mit Aetzbaryt zuschrieb und deshalb die Flüssigkeit von Neuem mit einer Lösung von 100 g Aetzbaryt erwärmte. Die Flüssigkeit nahm hierbei neben dem ammoniakalischen noch einen anderen nicht unangenehmen, sehr charakteristischen aromatischen Geruch an, wodurch es wahrscheinlich wurde, dass hier noch ein anderer basischer Körper entstanden sei. Es wurde deshalb die barythaltige Flüssigkeit mit vorgelegtem Kühler destillirt und das Destillat in Salzsäure aufgefangen. Die salzsaure Lösung verdunstet, zeigte neben Salmiakkrystallen auch ein in rhombischen Nadeln krystallisirendes Salz, das durch Krystallisation aus absolutem Alkohol frei von Salmiak erhalten wurde. Um die Base zu isoliren, habe ich das salzsaure Salz mit Natronlauge versetzt, worauf sie sich als ölige Schicht abgeschieden hat. Durch Schütteln mit Aether, Verdunsten der ätherischen Lösung erhielt ich so die obige Base von dem eigenthümlichen, angenehmen Geruch, die an der Luft stark Kohlensäure absorbirte und nach 12 stündigem Stehen zu einer blätterig krystallinischen Masse erstarrte. Sie wurde von Neuem in wenig Salzsäure gelöst und mit alkoholischem Platinchlorid gefällt. Das abgeschiedene Platinsalz, in heissem Wasser leicht, in kaltem nur sehr wenig löslich, liess sich sehr leicht umkrystallisiren und erwies sich unter dem Mikroskope als durchaus homogen, aus schönen flachen Nadeln bestehend. Die Analysen des Chloroplatinats gaben folgende Zahlen:

0.1330 der Substanz gaben 0.1399 g $CO_2$ und 0.0477 $H_2O$.

0.1034 g der Substanz enthielten 0.0312 g Platin.

Oder in 100 Theilen gef.

C 28.68
H 3.99
Pt 30.17

Die erhaltenen Zahlen stimmen auf die Formel eines Platinsalmiaks von der Zusammensetzung $(C_8H_{11}N)_2\,2\,HCl\,PtCl_4$, welche C 29.33, H 3.67, N 4.27 und 30.16 Pt verlangt. Eine flüchtige Base von der Zusammensetzung $C_8H_{11}N$ ist das von Anderson[1]) aus dem Dippel'schen Oele erhaltene Collidin. Diese Base wurde später von Ador und Baeyer[2]) durch Erhitzen von Aldehydammoniak mit Alkohol auf 120 bis 130° C. erhalten und fast gleichzeitig fand Krämer, dass Aethylidenchlorid, mit wässerigem $NH_3$ auf 160° C. erhitzt, dieselbe Base in grosser Menge und in sehr reinem Zustande liefert. Der Beschreibung nach scheint mir das Aldehyd-Collidin mit dem Anderson'schen identisch zu sein, wenn auch kleine Differenzen in der Beschreibung der Eigenschaften, wie sie von Anderson angegeben werden, und dem Aldehyd-Collidin von Baeyer[3]) hervorgehoben werden. Bei der Leichtigkeit, mit der man nach der Methode Krämer's Collidin bereiten kann, habe ich die Base

[1]) Ann. Chem. Pharm. **49**, 358.
[2]) Ebendaselbst **155**, 297.
[3]) l. c. S. 299.

in grösserer Quantität dargestellt, um sie mit der von mir erhaltenen vergleichen zu können. Schon der Geruch, die bedeutend leichtere Löslichkeit meiner Base in Wasser und die verschiedene Krystallform des Platinsalzes zeigten zur Genüge, dass die beiden Verbindungen nicht identisch sein können. Charakteristisch namentlich ist aber der Unterschied beim trockenen Erhitzen der beiden Platinsalze. Wird das Salz der Base aus Leimfäulniss trocken erhitzt, so entweicht ein mit russender Flamme brennendes Oel von eigenthümlichem, dem Xylol oder Cumol ganz ähnlichem Geruch. Bei dem Collidinplatinsalmiak konnte ich nichts Derartiges bemerken. Unwillkürlich drängt sich der Gedanke auf, dass hier eine aromatische Base, vielleicht von der Structur $C_6H_4<^{CH_3}_{CH_2-NH_2}$ vorlag. Leider machten die geringen Mengen alle weiteren Untersuchungen und Analysen unmöglich — und mehrfache Versuche, sie wieder in grösserer Menge zu erhalten, waren erfolglos. Trotzdem ist sie ein constantes Product der Gelatinefäulniss. Ich habe stets beobachtet, dass, wenn die Verdauungsflüssigkeit mit $SO_4H_2$ destillirt, das saure Destillat mit Natronlauge neutralisirt und erwärmt wurde, der charakteristische Geruch dieser Base auftrat. Sie scheint demnach ähnlich wie das Indol auch aus saurer Lösung mit den Wasserdämpfen sich zu verflüchtigen.

Nur erwähnen will ich hier noch eines anderen Productes, das vorzugsweise dann erhältlich zu sein scheint, wenn bei der Gelatinefäulniss kein Glycocoll gebildet wird. Ich erhielt in zwei Versuchen, nachdem das Ammoniak durch Baryt, die flüchtigen Fettsäuren durch Schwefelsäure verjagt wurden, aus der schwach schwefelsauren Verdauungsflüssigkeit beim Verdunsten auf dem Wasserbade statt Glycocoll grosse blätterige Krystalle von saurem Geschmack, die ich als schwefelsaures Salz einer neuen Verbindung erkannte. Durch Kochen mit $CO_3Pb$ wurde dies Salz zersetzt, von Spuren gelösten Bleies durch $SH_2$ befreit und auf dem Wasserbade eingedampft. Es hinterblieb ein dicker, farbloser Syrup, von ekligem, bitterem Geschmack, der auch nach längerem Stehen nicht krystallinisch wurde, jedoch mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert von Neuem das schwefelsaure Salz lieferte. — Ich bin mit der Untersuchung der Bedingungen, unter denen diese übrigens leicht zersetzbare Substanz aus Gelatine erhalten werden kann, beschäftigt und will bis zu Beendigung dieser Versuche auch die weiteren Mittheilungen hierüber verschieben.

Noch möchte ich hier einen Versuch anführen mit Tischlerleim, der mir deshalb interessant erscheint, weil nach sechstägigem Digeriren kein Glycocoll unter den Zersetzungsproducten gefunden wurde. 0.9810 des gewöhnlichen Tischlerleims verloren bei 110° C. bis zu constantem Gewichte getrocknet 0.1292 g $H_2O$ oder 13.27 Proc. und 0.8518 hinterliessen beim Glühen 0.0186 g oder 2.18 Proc. Asche. 300 g dieses Leims, entsprechend 253.6 g trockener Substanz, wurden in 6000 g destillirten Wassers gelöst und hierauf mit 100 g frischem Ochsenpankreas sechs Tage lang bei 40° C. digerirt. Die durch Leinen filtrirte, stark alkalische Flüssigkeit wurde in eine tubulirte Retorte gebracht, durch den Tubus eine Lösung von 300 g Aetzbaryt in die Retorte hineinfiltrirt und destillirt. Das Barytdestillat = 3010 ccm gab bei der Platinsalmiakbestimmung aus dem Pt berechnet 18.84 g N oder 22.9 g

$NH_3$. Der Retortenrückstand wurde sodann auf ein Filter gebracht und der abgeschiedene kohlensaure Baryt so lange mit heissem Wasser gewaschen, bis die ablaufende Flüssigkeit, mit verdünnter Schwefelsäure geprüft, nur sehr schwache Trübung zeigte. Sodann wurde der Niederschlag von $CO_3Ba$ in einer Porcellanschale bei 130° C. bis zu constantem Gewichte getrocknet und gewogen. Sein Gewicht betrug 70.3 g, entsprechend 15.7 g $CO_2$. Aus dem Filtrate wurde der überschüssige Baryt durch 100 g concentrirter $SO_4H_2$ entfernt, und das Filtrat von $SO_4Ba$ von Neuem destillirt. Das Destillat betrug 3810 ccm, davon waren 90.4 ccm zur Neutralisation von 20 ccm der Normalnatronlauge erforderlich. Die hier erhaltenen flüchtigen Fettsäuren bestanden etwa zur Hälfte aus Essigsäure, der Rest war Butter- und Valeriansäure, und zwar vorwiegend die erstere. Wird der Säuregrad auf Buttersäure bezogen, so würden die 3810 ccm des Destillates 45.8 g Buttersäure enthalten. 253.6 g Tischlerleim und 15 g Drüseneiweiss gaben demnach

45.8 g flüchtige Fettsäuren
22.9 „ $NH_3$
15.7 „ $CO_2$
im Ganzen 84.4 g flüchtige Producte.

Der Retortenrückstand, nach der Entfernung der $SO_4H_2$ durch Kochen mit $CO_3Pb$ und Eindampfen des entbleiten Filtrates, gab auch bis zu stärkstem Syrup concentrirt keine Krystallisation, weder nach längerem Stehen in der Kälte, noch nach Alkoholzusatz, und schien hauptsächlich aus dem Leimpepton zu bestehen. Man könnte vermuthen, dass hier das zuerst entstandene Leucin und Glycocoll zu Ammoniaksalzen der flüchtigen Fettsäuren umgewandelt wurden, ohne dass eine weitere Zersetzung des Leimpeptons hierauf nachfolgte.

## Zersetzung des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas.

Versuche über die Zersetzung der Eiweissstoffe durch die Digestion mit Pankreas an offener Luft sind hauptsächlich von Kühne[1]) angestellt worden, der aber eigentlich das Studium der Zersetzung des Fibrins durch das ungeformte Pankreasferment beabsichtigte. In einem Versuche, wo 382 g Fibrin mit sechs Liter Wasser und einem Hundepankreas von 55 g = 15.2 g trockener Drüsensubstanz sechs Stunden lang digerirt wurden, wurden als Resultat des Processes folgende Spaltungsproducte erhalten und zwar dem Gewichte nach:

382 g trockenes Fibrin
+ 15.2 g trockene Pankreassubstanzen
397.2 g

im Wesentlichen aus Eiweiss bestehender Substanz lieferten nach sechsstündigem Erwärmen mit Wasser von 40 bis 45° C.

11.0 g ungelösten Rest
42.5 g Albuminat und coagulirbares Albumin (nur gelöste, nicht verdaute Stoffe)
= 53.5 g unverdauter Substanz.

[1]) Virchow's Archiv **39**, 130. 1867.

... Eiweissstoffe in Verdauung gegangen unter Bildung von

... Pepton
... Tyrosin
... Leucin

... bekannter Verdauungsproducte;

... einer dem Anilin ähnlichen Substanz (allem Anscheine ... in der sechsten Stunde Fäulnissorganismen beobachtet ...

... zwei Versuche an. Den ersten, wo er Fibrin mit Zusatz ... lang, den zweiten, wo er Fibrin unter Zusatz von Soda ... Pankreas digerirte. In beiden Fällen wird ausdrücklich das ... Organismen hervorgehoben, jedoch wird beim letzten Versuch ... zum Sieden erhitzte Masse einen fast unerträglichen Gestank nach ... Indol entwickelte. Dem gegenüber will ich bemerken, dass in ... Versuchen, wo ich Eiweissstoffe mit Rinderpankreas digerirte, ich in ... immer das Auftreten von Fäulnissorganismen beobachtete. Allerdings ... (S. 107, l. c.), dass unter den vielen Verdauungsversuchen, die er ... Soda anstellte, dies der einzige war, den er mit grösseren Fibrin... Störung durch Fäulnissorganismen bis zur zehnten Stunde durch... vermochte.

Nimmt man in Betracht, dass ausserdem Radziejewski und Salkowski[1]) ... Digestion von Fibrin mit Pankreas die Asparaginsäure und Kistjakowski[2]) ... erhielten, so ergiebt sich, dass bei der Fäulniss von Eiweissstoffen ... Pankreas in erster Instanz fast alle bis jetzt aus Eiweiss durch Hydratation er... Producte auftreten.

Wie gestaltet sich nun das Bild der pankreatischen Fäulniss bei länger fortgesetzter Digestion? Welche von den obengenannten Producten erleiden weitere ... und welche treten neu dafür auf?

Um diese Fragen zu beantworten, habe ich drei vergleichende, quantitative Versuche mit Eiereiweiss angestellt und erhielt folgende Resultate:

Ich benutzte dazu das käufliche Eiereiweiss, welches, bei 110° C. bis zu constantem Gewichte getrocknet, 14.5 Proc. Wasser verlor. Die trockene Substanz enthielt 5.40 Proc. Asche, hauptsächlich aus Kochsalz neben geringen Mengen phosphorsauren und kohlensauren Alkalien und alkalischen Erden bestehend.

Erster Versuch. 200 g dieses Eiweisses wurden mit 4000 ccm Wasser übergossen und mit 100 g frischem Ochsenpankreas viermal 24 Stunden bei 40° C. digerirt. Hierauf durch Leinen in eine tubulirte Retorte filtrirt und unter Vermeidung der atmosphärischen Kohlensäure mit einer Lösung von 300 g krystallisirten Bleizuckers versetzt und destillirt. Das in Salzsäure aufgefangene Destillat wurde trübe und setzte beim Stehen einen rothen Niederschlag ab, der wohl hauptsächlich salzsaures Indol war. Es wurde davon abfiltrirt. Das klare Filtrat betrug 2675 ccm.

1) Ber. 7, 1050.
2) Pflüger's Archiv 9, 459.

5 ccm dieses Destillats ergaben bei der Stickstoffbestimmung 0.1797 Pt, entsprechend im Ganzen 13.78 g N oder 16.75 $NH_3$.

Der Retortenrückstand wurde auf ein Filter gebracht und der Niederschlag so lange mit heissem Wasser gewaschen, bis das Filtrat nicht mehr durch $SO_4H_2$ getrübt wurde. Der ausgewaschene und bei 130° C. getrocknete Niederschlag, aus $CO_3Ba$ bestehend, wog 54.3 g, entsprechend 12.07 g $CO_2$.

Das Filtrat mit dem Waschwasser vereinigt wurde mit 100 g $SO_4H_2$ gefällt, von dem $SO_4Ba$-Niederschlage filtrirt, sorgfältig ausgewaschen und destillirt. Das erhaltene saure Destillat betrug 2400 ccm, wovon 56 ccm für 20 ccm der Normalnatronlauge (20 ccm = 0.2884 g Na) erforderlich waren. Die erhaltenen flüchtigen Fettsäuren bestanden zu etwa $^3/_4$ aus Buttersäure und $^1/_4$ aus Valeriansäure. Essig- oder Propionsäure konnte nicht nachgewiesen werden. Wird der Säuregrad auf Buttersäure bezogen, so wäre das Gewicht der erhaltenen Säure = 47.01 g.

Der Retortenrückstand wurde nunmehr zur Entfernung der überschüssig zugesetzten Schwefelsäure mit kohlensaurem Blei gekocht, das gelöste Blei durch $SH_2$ entfernt und das Filtrat auf dem Wasserbade eingedampft. Bei Syrupsconsistenz wurde eine Krystallisation bemerkbar; ich liess daher die Flüssigkeit erkalten, worauf sie nach 24stündigem Stehen in der Kälte zu einem nur aus Leucin bestehenden Krystallbrei erstarrte. Sie wurde auf dem Aspirator filtrirt, mit absolutem Alkohol gewaschen und die nur wenig gelb gefärbten Krystalle zunächst auf Papier, sodann bei 100° C. getrocknet. Ihr Gewicht betrug 9,7 g. Aus der Leucin-Mutterlauge konnte keine weitere Krystallisation erhalten werden. Die Anwesenheit der Peptone darin konnte leicht durch die Biuretreaction nachgewiesen werden.

Ich erhielt demnach aus

160 g Eiereiweiss, wasser- und aschefrei nach 4tägiger Digestion
\+ 15 „ Drüseneiweiss

oder in Summa 175 g trockener Eiweisssubstanz

| | | | |
|---|---|---|---|
| 16.75 $NH_3$ | oder in Procenten | 9.57 $NH_3$ | |
| 12.07 $CO_2$ | | 6.90 $CO_2$ | |
| 47.01 Buttersäure | | 26.90 Buttersäure | |
| 9.70 Leucin | | 5.53 Leucin | |
| 85.53 g isolirte Producte | | 48.90 Proc. | |

Zweiter Versuch. 200 g des gleichen Eiweisses wurden in 4000 g destillirten Wassers gelöst, mit 100 g frischem Ochsenpankreas versetzt und acht Tage lang bei 40° C. digerirt. Die Verarbeitung der gefaulten Flüssigkeit geschah genau wie im vorigen Versuche. Das Barytdestillat betrug 2000 ccm. Davon ergaben 5 ccm 0.2802 g Pt = 0.03965 g N oder 15.85 N = 19.25 $NH_3$.

Das saure Destillat wurde ebenfalls durch Zusatz von Wasser auf 2000 ccm gebracht. Davon brauchten 20 ccm der Normalnatronlauge 38.5 ccm zur Neutralisation; die flüchtigen Fettsäuren erwiesen sich als fast nur aus Butter- und Valeriansäure bestehend. Die mit Natriumhydrat neutralisirte Lösung setzte, bis zum dicken Syrup eingedampft, nur sehr spärliche Krystalle von essigsaurem Natrium ab und bei der Rectification der durch $SO_4H_2$ abgeschiedenen öligen Säuren wurden nur die beiden obigen Säuren erhalten. Mehr wie $^4/_5$ davon war Buttersäure, welche

zwischen 145 bis 160° C. überdestillirte. Das Silbersalz, aus einem Theil di
Fraction dargestellt, ergab folgende Zahlen: 0.3612 des über $SO_4H_2$ getrockn
Salzes hinterliessen beim Glühen 0.2006 g Ag oder 55.53 Proc. Ag. Die Foi
$C_4H_7AgO_2$ verlangt 55.28 Proc. Ag.

Der Rest der Flüssigkeit ging zwischen 160 bis 174° C. vollständig über.
wurde diese ganze Fraction in das Silbersalz verwandelt, welches bei der
Bestimmung sich als valeriansaures Silber erwies. 0.1702 g des Salzes hinterlie
geglüht 0.087 g Ag oder 51.12 Proc. Ag. Valeriansaures Silber verlangt 51.67 I
Ag. — Wird der Säuregrad in diesem Versuche auf Buttersäure bezogen, so
hielten die 2000 ccm des Destillates 57.14 g Buttersäure.

Der bei der Destillation mit Barytlösung entstandene Niederschlag von CO
mit heissem Wasser ausgewaschen und bei 130° C. getrocknet, wog 42.1 g,
sprechend 9.40 g $CO_2$. — Die nach Entfernung des Ammoniaks, der flücht
Fettsäuren und der überschüssigen $SO_4H_2$ erhaltene Lauge setzte bei hinreiche
Concentration auf dem Wasserbade Krystalle ab, die, unter dem Mikroskope betrac
hauptsächlich aus Leucinkugeln bestanden. Daneben waren spärliche, nadelförn
meistens concentrisch gruppirte Krystalle, die ich für Tyrosin hielt. Ihre Menge
jedoch zu gering und sie lösten sich verhältnissmässig leichter in Wasser als Tyr
so dass ich sie nicht ganz leucinfrei isoliren konnte. — Das Gewicht des erhalt
Leucins war 6.2 g bei 100° C. getrocknet. Die Mutterlauge des Leucins gab k
weitere Krystallisation. — Durch die Biuretreaction waren darin Peptone nachw
bar; ihre Menge jedoch, wie überhaupt die des ganzen syrupösen Rückstandes,
schon augenscheinlich viel geringer als wie im vorigen Versuche.

175 g trockener Eiweisssubstanz gaben demnach nach achttägiger Fäulniss

| | | | |
|---|---|---|---|
| 19.25 g | $NH_3$ | oder in Procenten | 11.00 $NH_3$ |
| 9.40 „ | $CO_2$ | | 5.37 $CO_2$ |
| 57.14 „ | Buttersäure | | 32.65 Buttersäure |
| 6.20 „ | Leucin | | 3.55 Leucin |
| 91.99 g | isolirter Producte | | 52.57 Proc. |

Um zu sehen, ob ausser Ammoniak noch andere flüchtige Basen bei der p
kreatischen Fäulniss aus Eiereiweiss entstehen, habe ich die in Salzsäure aufgefange
Barytdestillate dieser beiden Versuche vereinigt, zur Trockne verdunstet und su
nun daraus durch wiederholte Krystallisation aus absolutem Alkohol das ch
wasserstoffsaure Salz etwaiger organischer Basen zu isoliren. Nach dreimal
Wiederholung dieser Operation blieb nur ein minimaler Rückstand zurück, der u
dem Mikroskope das Aussehen des gewöhnlichen Salmiaks zeigte. Trotzdem w
der Rückstand in das Platinsalz verwandelt. Bei der Analyse wurde jedoch d
43.7 Proc. Pt gefunden. Die Formel: $(NH_3)_2 2HClPtCl_4$ verlangt 44.8 Proc
— Es scheint demnach auch hierin ein Unterschied zwischen dem Eiweiss
der Gelatine zu bestehen.

Dritter Versuch. 200 g des gleichen Eiweisses wurden mit 6
destillirten Wassers und 100 g frischem Ochsenpankreas 14 Tage lang bei 40
digerirt. Nach Verlauf dieser Zeit wurde die schwach alkalisch reagirende Flüs
keit, in der nunmehr auch die Drüsenstückchen fast vollständig zergangen wa

mit einer Lösung von 300 g krystallisirten Aetzbaryts destillirt. Das in Salzsäure aufgefangene Destillat betrug 1300 ccm und 5 ccm davon, mit Platinchlorid gefällt, ergaben bei der Pt-Bestimmung 0.3500 g Pt, entsprechend 12.88 g N oder 15.64 g $NH_3$.

Der Retortenrückstand wurde von dem abgeschiedenen $CO_3Ba$ filtrirt, der Niederschlag mit heissem Wasser ausgewaschen und bei 130° C. getrocknet. Sein Gewicht betrug 23.98 g, entsprechend 5.36 g $CO_2$.

Das Filtrat sammt Waschwasser wurde mit 100 g concentrirter $SO_4H_2$ gefällt, filtrirt, ausgewaschen und destillirt. Destillat = 2420 ccm. Davon 34.2 ccm zur Neutralisation von 20 ccm der Normalnatronlauge verbraucht. Das gesammte saure Destillat, mit Natriumhydrat neutralisirt, gab auf dem Wasserbade verdunstet keine Krystallisation von $C_2H_3ONa$. Es wurde deshalb die ganze Masse mit $SO_4H_2$ zerlegt und das abgeschiedene saure Oel nach dem Trocknen über $CaCl_2$ rectificirt. Die Flüssigkeit begann bei 125° C. zu sieden. Der Quecksilberfaden stieg jedoch rasch auf 150° und zwischen 150 bis 165° C. destillirte die ganze Menge über. Die in diesem Versuche erhaltene Säure war demnach fast ganz reine normale Buttersäure; denn auch die zwischen 130 bis 150° übergegangene erste Fraction, in das Silbersalz verwandelt, ergab bei der Ag-Bestimmung folgendes Resultat. Angewandte Substanz = 0.2108 g, gefundenes Ag = 0.1144 g oder 54.26 Proc. Buttersaures Silber verlangt 55.28 Proc. Ag. Valeriansäure war hier nicht vorhanden. Die höchst siedende Fraction löste sich in Wasser vollkommen auf und auch auf andere Weise wurde ihre Abwesenheit constatirt. Vor Kurzem habe ich eine homologe Reihe basischer Körper — der Guanamine — beschrieben[1]), die durch Erhitzen der Guanidinsalze der einbasischen Fettsäuren auf 220 bis 230° C. entstehen und deren Bildung durch die allgemeine Gleichung $(C_nH_{2n}O_2CN_3H_5)_3 = C_{n+2}H_{2n+3}N_5 + 2(C_nH_{2n}O_2) + CO_2 + 4NH_3$ ausgedrückt wird. Diese Basen sind um so weniger in Wasser löslich, je höher ihr Kohlenstoffgehalt ist. Aus einem z. B. durch Erhitzen des essig- und des buttersauren Guanidins entstandenen Gemische des Aceto- und Butyroguanamins scheidet sich bei der Fällung der Schmelze mit Natronlauge stets zuerst das letztere aus, was bei der charakteristischen Krystallform jeder dieser Basen sehr leicht durch die mikroskopische Untersuchung des Niederschlages erkannt wird. Schon mit einem Gramm des Säuregemenges lässt sich diese Reaction durch Sättigen mit kohlensaurem Guanidin und Erhitzen in einem Reagensröhrchen bis zu starker Ammoniakentwickelung ausführen. Im Falle, dass der Niederschlag nicht deutlich entwickelte Krystallformen zeigt, wird die darüber stehende Lauge abgegossen und der Bodensatz aus wenig heissem Wasser umkrystallisirt. Beim langsamen Erkalten des Filtrates werden stets wohl ausgebildete Krystalle erhalten.

Die über 160° C. in obigem Versuche siedende Fraction habe ich in das Guanidinsalz und durch Erhitzen des letzteren in das entsprechende Guanamin verwandelt. Die erhaltenen Krystalle der Base zeigten bei der mikroskopischen Betrachtung nur die von mir für das Guanamin der normalen Buttersäure beschriebenen Formen. Von radialstrahlig oder längs der Hauptaxe zusammengewachsenen

---

[1]) Ber. 7, 1584; 9, 228. — Dieser Band S. 84, 154.

rhombischen Nadeln, wie sie Bandrowski[1]) als charakteristisch für das Guanamin der Valeriansäure beschreibt, war nichts zu bemerken. Aus der Normalnatronlauge berechnet, wurden in diesem Versuche 78.15 g Buttersäure erhalten.

Der schwefelsaure Retortenrückstand wurde mit Barytlösung genau neutralisirt, filtrirt und auf dem Wasserbade concentrirt. Noch bevor die Flüssigkeit die Consistenz eines dünnen Syrups hatte, zeigten sich auf der Oberfläche Krystalle. Ich liess deshalb erkalten, worauf in mehreren Stunden noch mehr von den Krystallen abgeschieden wurde, die unter dem Mikroskope als hauptsächlich aus Nadeln, zum Theil sehr feinen, zum Theil mehr blätterigen und concentrisch gruppirten bestehend, sich zeigten. Es waren genau die gleichen Formen, wie ich sie im vorigen Versuche gesehen und die ich für Tyrosin hielt. Leucinkugeln waren diesmal nur wenig dabei. Die Krystalle wurden abfiltrirt, mit wenig Wasser gewaschen und auf Fliesspapier getrocknet. Zu ihrer völligen Reinigung habe ich sie in möglichst wenig heissem Wasser gelöst, filtrirt und das Filtrat mit dem gleichen Volumen absoluten Alkohols versetzt. Es erfolgte eine reichliche Krystallisation von weissen, atlasglänzenden Nadeln, die unter dem Mikroskope sich als völlig homogen erwiesen. Ich hielt sie bis zuletzt für Tyrosin. Um dessen sicher zu sein, erhitzte ich eine Probe davon mit Aetzbaryt, in der Erwartung, dass dabei die charakteristischen, nach Phenol riechenden Dämpfe auftreten würden. Dies war nicht der Fall, vielmehr hatten die Dämpfe einen starken Amylamingeruch. — Die Piria'sche und Hoffmann'sche Probe gab ebenfalls ein negatives Resultat. Tyrosin war die Substanz nicht. Hingegen ergab die Elementaranalyse des ganz reinen, aschefreien Körpers, von dem ich aber nur 0.26 g übrig hatte, mit der Formel des Leucins übereinstimmende Zahlen:

0.1804 g der über $SO_4H_2$ getrockneten Substanz ergaben 0.3604 g $CO_2$ und 0.1613 g $H_2O$.

Oder in Procenten:

| Es wurde gefunden | Leucin = $C_6H_{13}NO_2$ verlangt |
|---|---|
| C 54.49 | C 54.96 Proc. |
| H 9.92 | H 9.92 „ |

Dass hier nur ein isomeres Leucin vorliegen konnte, ergiebt sich aus Folgendem: Die Substanz ist in Wasser und Alkohol schwerer löslich als das gewöhnliche Leucin und lässt sich leicht durch diese Lösungsmittel von dem letzteren trennen. Sie schmeckt schwach, aber deutlich süss und krystallisirt stets in Nadeln. Mit gewöhnlichem Leucin hat sie gemeinschaftlich, dass sie, in trockenem Reagensröhrchen vorsichtig erhitzt, vollständig ohne zu schmelzen sublimirt, wobei sich zuerst dichte baumwollenartige Flocken und dann weisse, nach Amylamin riechende Nebel bilden. Im Capillarröhrchen im $SO_4O_2$-Bade erhitzt, schmilzt sie nicht, sondern bei etwa 210° sublimirt sie zum grössten Theil und hinterlässt einen ganz geringen braunen Rückstand. Auf Platinblech erhitzt, entwickelt sie Anfangs den Geruch nach Amylamin, später den nach verbranntem Horn und verbrennt schliesslich mit heller Flamme vollständig. Ich erhielt im Ganzen von dieser Substanz gegen 1 g. Man wird sie jedoch leicht wieder erhalten und genauer untersuchen können. Es wird

[1]) Ber. **9**, 240. — Dieser Band S. 164.

dies hauptsächlich deshalb von Interesse sein, weil die Verschiedenheit der zahlreichen Eiweissstoffe von gleicher procentischer Zusammensetzung vielleicht zum Theil schon durch die Verschiedenheit der sie aufbauenden isomeren Moleküle begründet ist.

Die von diesem Körper abfiltrirte Lauge hinterliess bei weiterem Verdampfen 5.5 g nur wenig gelb gefärbtes Leucin. Ich erhielt keine weitere Krystallisation. Der dicke Syrup, welcher die Peptonreaction zeigte, wurde Anfangs auf dem Wasserbade, später bei 100° im Luftbade getrocknet. Sein Gewicht war 31.5 g oder, nach Abzug von 8.73 g Asche, 22.77 g.

Die nach 14 tägiger Fäulniss aus 175 g trockener Eiweisssubstanz erhaltenen Spaltungsproducte sind folgende:

| und zwar dem Gewichte nach: | oder in Procenten: |
|---|---|
| 15.64 g $NH_3$ | 8.94 $NH_3$ |
| 5.36 „ $CO_2$ | 3.06 $CO_2$ |
| 78.15 „ Buttersäure | 44.06 Buttersäure |
| 5.5 „ Leucin | 3.24 Leucin |
| 1.0 „ isomeres Leucin | 0.57 isomeres Leucin |
| 22.77 „ Rückstand | 13.00 Rückstand |
| 128.42 g erhaltener Producte | 72.87 Proc. |

Aus dem Vergleich dieser drei Versuche ergiebt sich nun zunächst, dass bei fortgesetzter Fäulniss die Kohlensäure stetig abnimmt. Ihre Menge für 175 g trockener Eiweisssubstanz betrug nach viertägiger Fäulniss 12.07 g, nach achttägiger 9.40 g und nach 14 tägiger 5.36 g. Umgekehrt nimmt die Menge der flüchtigen Fettsäuren immer zu. Sie betrug im ersten Versuch 47.01 g, im zweiten 57.14 und im dritten 78.15 g. Die Erklärung hierfür ist sehr einfach. In dem Maasse, als die Eiweisssubstanz zersetzt wird, vermehrt sich die Menge des fettsauren und des kohlensauren Ammoniaks. Das letztere verflüchtigt sich allmählich, während die flüchtige Fettsäure, an Ammoniak gebunden, in der faulenden Flüssigkeit bleibt. Wie grosse Mengen davon aus dem Eiweissmolekül gebildet werden, zeigt der dritte Versuch, wo aus 175 g Eiweiss 93 g oder 53 Proc. buttersaures Ammoniak entstanden sind. Die Kohlensäure scheint Anfangs als neutrales Salz $CO_3(NH_4)_2$ in der Flüssigkeit enthalten zu sein, denn im ersten Versuche erfordern 47.01 g Buttersäure 9.09 g $NH_3$, 12.07 g $CO_2$, als neutrales Ammoniaksalz berechnet, erfordern 9.1 g $NH_3$, im Ganzen 18.19 g $NH_3$. Es wurde gefunden 16.75 $NH_3$. Im zweiten Versuche erfordern 57.14 g Buttersäure zur Neutralisation 11.07 g $NH_3$, und 9.40 g Kohlensäure, als $CO_3(NH_4)_2$ berechnet, erfordern 7.36 g $NH_3$, im Ganzen 18.43 g $NH_3$. Es wurde gefunden 19.25 $NH_3$. Nach längerem Stehen scheint das Ammoniak als saures Carbonat $CO_3HNH_4$ in der Flüssigkeit enthalten zu sein; denn 78.15 g Buttersäure brauchen zur Neutralisation 15.04 g $NH_3$, und 5.36 $CO_2$ als saures Ammoniaksalz verlangen genau 2.0 g $NH_3$, im Ganzen 17.0 g $NH_3$. Es wurde aber gefunden 15.64 g.

Der Schwefel des Eiweisses tritt zum Theil als $SH_2$, zum Theil aber in oxydirtem Zustande als Schwefelsäure auf. Der Niederschlag von $CO_3Ba$, mit verdünnter Salzsäure übergossen, hinterliess stets einen geringen, in der Säure unlöslichen

Niederschlag von $SO_4Ba$. Es sind deshalb die Zahlen für den kohlensauren um ein Geringes zu hoch angegeben.

Sehr interessant ist, je nach der Dauer des Versuches, die wechselnde Zusar setzung der flüchtigen Fettsäuren. Zu der zuerst bei der Eiweissfäulniss auftrel Valeriansäure gesellt sich sehr bald die normale Buttersäure, und die letztere : in dem Maasse zu, als die erstere abnimmt, bis schliesslich nach 14 tägiger Dig keine Valeriansäure, sondern nur Buttersäure und zwar in einer sehr grossen gefunden wird. Wie werden diese flüchtigen Säuren aus dem Eiweissm gebildet? Entstehen sie aus ihm direct oder sind sie erst secundäre Oxyda producte der nächsten, durch Hydratation des Eiweisses entstandenen Derivat des Leucins, Tyrosins, Glycocolls, der Glutamin- und Asparaginsäure? S nicht Versuche über das Verhalten dieser Amidosäuren gegen die geformten Fer Aufklärung verschaffen, sowohl über ihr Schicksal, als wie auch über den Urs der flüchtigen Fettsäuren bei der Fäulniss? Die wenigen Versuche, die ich in Richtung anstellte, bedürfen noch mancher Ergänzung, allein sie geben scho theilweise Aufklärung, andererseits bieten sie Fingerzeige, in welcher Weise Versuche neu anzustellen sind.

### Ueber das Verhalten des Leucins, des Tyrosins und des Glycc bei der Fäulniss mit Pankreas.

Mit Leucin ist bereits von Bopp[1]) ein Versuch in dieser Richtung ausg worden, den er folgendermaassen beschreibt: „Ein Gramm reines Leucin, in V gelöst, mit einem Stückchen Fibrinfaser, welches getrocknet kaum ein halbes G gewogen haben würde, zusammengebracht und an einen temperirten Ort geb ging alsbald in Fäulniss über. Nachdem es einige Wochen gestanden hatte, er die Flüssigkeit Ammoniak, und mit etwas Schwefelsäure versetzt, destillirt, li die Flüssigkeit eine so grosse Menge Baldriansäure, wie sie von dem Fibrin herrühren konnte. Beim Fällen mit essigsaurem Bleioxyd, Behandeln mit Sch wasserstoff und Abdampfen blieb eine so geringe Menge von unreinem Leucin zu dass dies offenbar nur von dem Fibrin herrührte, welches, indem es das Leucir setzte, Leucin bildete.“

Ich habe den Versuch Bopp's mit grösseren Quantitäten Leucin wiederhol durch quantitative Bestimmungen sein Resultat bestätigt. In einem Versuche w 50 g reines, durch Kochen von Hornspänen mit Schwefelsäure bereitetes Leuc 2 Liter Wasser gelöst, der Flüssigkeit 30 g frisches Ochsenpankreas zugesetzt vier Tage lang bei 40° C. digerirt. Die hierauf von den Drüsenresten fil Flüssigkeit mit einer Lösung von 25 ccm englischer $SO_4H_2$ versetzt und des Das Destillat betrug 720 ccm, 20 ccm der Normalnatronlauge brauchten c 57.4 ccm zur Neutralisation, was auf Valeriansäure bezogen 15.9 g Valerian entsprechen würde. Das saure Destillat, vollständig mit Soda neutralisirt und e dampft, gab keine Krystallisation von essigsaurem Natrium; vielmehr bestand e aus dem valeriansauren Salze. Die abgeschiedene Säure ging bei der Rectific

[1]) Ann. Chem. Pharm. **69**, 35.

zwischen 168 bis 180° C. über. Die Analyse des aus der rectificirten Säure erhaltenen Silbersalzes ergab folgende Zahlen: angewandte Substanz = 0.1743 g hinterliess geglüht 0.0891 g Ag, oder 51.06 Proc.; valeriansaures Silber verlangt 51.67 Proc. Ag. Der Retortenrückstand wurde zur Entfernung des Ammoniaks und der Schwefelsäure mit Baryt gekocht, das Filtrat genau mit $SO_4H_2$ neutralisirt, filtrirt und eingedampft. Aus der Lauge wurden noch 16 g unverändertes Leucin wieder erhalten.

In einem zweiten Versuche erhielt ich folgende Zahlen: 15 g bei 100° C. getrocknetes, reines Leucin wurden in 1500 g Wasser gelöst und mit 20 g Ochsenpankreas sechs Tage lang bei 40° C. digerirt. In den ersten drei Tagen war die Reaction schwach sauer, in den folgenden schwach alkalisch. Hierauf erhitzte ich die Flüssigkeit zum Sieden, um das Wenige vom gelösten Drüseneiweiss zu coaguliren, was gut gelang, und destillirte das Filtrat mit 20 g Aetzbaryt. Das erhaltene Destillat betrug 800 ccm, davon 5 ccm mit Platinchlorid gefällt. Der erhaltene Platinsalmiak hinterliess nach dem Glühen 0.0772 g Pt, entsprechend im Ganzen 1.74 g N oder 2.11 g $NH_3$. Der Retortenrückstand wurde von dem abgeschiedenen $CO_3Ba$ filtrirt. Der Niederschlag von $CO_3Ba$ ausgewaschen und getrocknet wog 1.97 g entsprechend 0.44 g $CO_2$.

Das Filtrat von kohlensaurem Baryt wurde mit Schwefelsäure versetzt, filtrirt und destillirt. Das Destillat betrug 1700 ccm, davon wurden 103.4 ccm auf 10 ccm der Normalnatronlauge verbraucht, was 10.5 g Valeriansäure entspricht. Das übrige Destillat mit Natriumhydrat neutralisirt und verdampft, das hinterbliebene valeriansaure Salz mit verdünnter $SO_4H_2$ zersetzt und das abgeschiedene Oel mit $H_2O$ gewaschen war Valeriansäure, wie ich mich durch Darstellung des entsprechenden Guanamins überzeugte. Die Base krystallisirte in rhombischen, längs der Hauptaxe zusammengewachsenen Nadeln, genau wie sie Bandrowski als charakteristisch für das Butylenguanamin beschreibt, wozu er Valeriansäure, aus käuflichem Amylalkohol bereitet, verwendete. Ich möchte diesen Umstand hier deshalb betonen, weil ich bei der Darstellung des Butylenguanamins aus der bei der Pankreasfäulniss erhaltenen Valeriansäure Krystallformen erhielt, die wesentlich von denen durch Bandrowski stets erhaltenen verschieden waren. Das Butylenguanamin aus der Fäulnissvaleriansäure habe ich öfters auch nach mehrfachem Umkrystallisiren in quadratischen Prismen und Combinationen mit Pyramiden erhalten. Schon oben hatte ich Gelegenheit, zu erwähnen, dass bei der Eiweissfäulniss verschiedene Leucine entstehen, welche Isomerien in den daraus durch Oxydation entstandenen Valeriansäuren sich wieder finden.

Es lag nicht im Plane dieser Arbeit, die Valeriansäuren verschiedenen Ursprungs näher zu untersuchen. Ich werde an einem anderen Orte später ausführlicher darüber berichten. Bemerken muss ich nur, dass bereits Erlenmeyer und Hell[1]) darauf aufmerksam machen, dass die Valeriansäure aus der Baldrianwurzel — wie auch die durch Oxydation von Amylalkohol und von Leucin aus verschiedenen Eiweisskörpern — fast immer aus zwei Säuren in wechselndem Verhältniss zu bestehen

[1]) Ann. Chem. Pharm. **160**, 287.

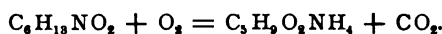
scheint, von welchen die eine inactive Isobutylameisensäure ist, während die and‹
jene optisch active ist, deren Barytsalz sich durch grössere Löslichkeit und gering‹
Krystallisationsfähigkeit auszeichnet.

Aus den Laugen wurden noch 1.2 g unverändertes Leucin gewonnen.

Aus 15 g Leucin und 3 g Drüseneiweiss wurden nach sechstägiger Digesti
erhalten:

| | |
|---|---|
| 2.11 g | $NH_3$ |
| 0.44 „ | $CO_2$ |
| 10.50 „ | Valeriansäure |
| 1.2 „ | Leucin |
| 14.25 g | isolirte Producte. |

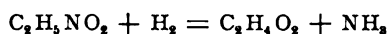
Es ist demnach als erwiesen zu betrachten, dass das bei der Fäulniss entstande
Leucin durch die Bacterien zunächst zu valeriansaurem $NH_3$ oxydirt wird, gem
der Gleichung:

$$C_6H_{13}NO_2 + O_2 = C_5H_9O_2NH_4 + CO_2.$$

Aus den Zahlen aber, die ich mit Eiereiweiss nach 14 tägiger Fäulniss erhi
ergiebt sich, dass durch die Bacterien die Valeriansäure weiter zu normaler Butt
säure oxydirt wird:

$$C_5H_{10}O_2 + O_3 = C_4H_8O_2 + CO_2 + H_2O.$$

Die normale Buttersäure scheint diesen niedrigen Organismen gegenüber e
auffallende Resistenz zu haben, denn in dem oben genannten Versuche wurden ke
kohlenstoffärmeren Säuren, wie Propion- oder Essigsäure, erhalten, die als wei
Oxydationsproducte aufgefasst werden könnten. Die Zersetzung der organisc
Verbindungen durch geformte Fermente ist daher auch von der Natur der betreff
den Verbindung abhängig und homologe Reihen zeigen der oxydirenden Wirk
der Bacterien gegenüber ein verschiedenes Verhalten. Dass dem so ist, wird du
den gleich anzuführenden Versuch bestätigt:

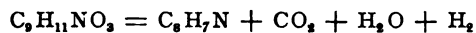
Die grossen Mengen Essigsäure, die ich stets bei der Fäulniss von Gela
mit Pankreas erhielt, führten mich auf die Vermuthung, dass die Essigsäure aus c
Glycocoll, das ja ein so charakteristischer Bestandtheil der Gelatine ist, durch
duction nach der Gleichung

$$C_2H_5NO_2 + H_2 = C_2H_4O_2 + NH_3$$

entstehe. Diese Annahme war auch deshalb wahrscheinlich, weil Wasserstoff
constantes Product bei der pankreatischen Eiweissfäulniss von **Kunkel** gefund
wurde. In dem oben angeführten Versuche mit Leucin erwartete ich auch, d
Leucin zunächst in Capronsäure und $NH_3$ gespalten und die Valeriansäure erst dur
Oxydation des ersteren gebildet wird.

Diese Annahme wurde in Betreff von Leucin nicht bestätigt. Das Leucin wi
direct zu valeriansaurem Ammoniak oxydirt. Ein Versuch mit Glycocoll ergab ab
ein ganz negatives Resultat. 30 g reines Glycocoll wurden mit 20 g Ochsenpankre
nach achttägiger Digestion bei 40° C. nicht im mindesten verändert. Als na
Verlauf dieser Zeit die zum Sieden erhitzte und filtrirte Flüssigkeit mit 20 g $SO_4$
destillirt wurde, fand ich, dass das Destillat nur minimale Spuren flüchtiger Fe

säure, offenbar aus dem Drüseneiweiss entstanden, enthielt, und nach Entfernung der $SO_4H_2$ durch Baryt habe ich fast alles Glycocoll wieder erhalten können. Es ergiebt sich hieraus, dass unter den Amidosäuren das Glycocoll, ähnlich wie unter den Fettsäuren die Buttersäure, der Einwirkung der Bacterien unter den gleichen Bedingungen wie Leucin ausgesetzt, nicht verändert wird. Bei der Fäulniss, ähnlich wie dies schon Guckelberger[1]) bei der Oxydation der Proteïnstoffe sah, liefert Leim die grösste Menge Essigsäure, und der obige Versuch zeigt, dass sie nicht ein secundäres Product aus dem Glycocoll ist.

Von besonderem Interesse war für mich das Verhalten des Tyrosins bei der Fäulniss. Nach dem Tyrosin ist das Indol die zweite aus dem Eiweiss erhaltene aromatische Substanz und es war mir auffallend, dass aus dem Leim, welcher mit Säuren und Alkalien, oder auch mit Pankreas digerirt kein Tyrosin, sondern nur Leucin und Glycocoll liefert, kein Indol erhalten wurde. Es war die Möglichkeit vorhanden, dass das Indol bei der Fäulniss erst secundär aus dem Tyrosin, etwa nach der Gleichung

$$C_9H_{11}NO_3 = C_8H_7N + CO_2 + H_2O + H_2$$

entsteht. Auch wird Tyrosin nur in den ersten Stunden der pankreatischen Fäulniss gefunden. Nach 24stündiger Digestion von Eiweiss mit Pankreas wird unter den Verdauungsproducten nie Tyrosin gefunden, wie dies übrigens schon Kühne bemerkte und ich auf Grund vieler Versuche bestätigen kann. 10 g reines Tyrosin wurden in 4 Liter heissem Wasser unter Zusatz von Soda (2 g) gelöst und der auf 40° C. erkalteten Flüssigkeit 20 g Ochsenpankreas zugesetzt. Nach 12 Stunden nahm die alkalische Flüssigkeit einen faulen Geruch an und waren zahlreiche Bacterien darin vorhanden. Dieser Geruch wurde aber bei mehrtägigem Stehen schwächer, ein Theil des Tyrosins krystallisirte aus. Am sechsten Tage wurde die Flüssigkeit mit Essigsäure angesäuert und destillirt.

Im Destillate waren nur minimale Spuren Indol nachweisbar. Nach Zusatz von rother Salpetersäure setzten sich erst nach mehrstündigem Stehen einige Milligramm der Verbindung $C_6H_{13}N_3ONO_3H$ ab. Indol war also aus dem Tyrosin nicht entstanden. Aus dem Retortenrückstande habe ich einen Theil des Tyrosins wieder erhalten. Die davon filtrirte Mutterlauge hinterblieb bei weiterem Verdunsten als ein schmieriger Syrup, der für eine weitere Verarbeitung nicht geeignet war. Ich muss daher offen lassen, ob unter anderen Bedingungen Tyrosin zu Indol umgewandelt wird. Mein Versuch mit Sodazusatz zeigt nur, wie eine Wiederholung desselben nicht angestellt werden darf.

Mit Glutaminsäure und Asparaginsäure habe ich keine Versuche angestellt, doch da sie nach Entfernung des Glycocolls resp. Leucins in den Laugen gefunden wurden, so ist es mir wahrscheinlich, dass diese beiden Amidosäuren durch den Lebensprocess der Bacterien verbrannt werden.

Von besonderem Interesse ist die Zusammensetzung der bei der pankreatischen Eiweissfäulniss auftretenden Gase und namentlich im Vergleich mit den aus dem Eiweiss durch die Einwirkung des ungeformten Pankreasfermentes erzeugten.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. 64, 98.

So fand Kunkel[1]) nach mehrstündiger Digestion von Fibrin mit Pankreas ih Zusammensetzung in drei nach einander analysirten Proben wie folgt:

| | 1. | | 2. | | 3. |
|---|---|---|---|---|---|
| $CO_2$ | 68.4 Vol.-Proc. | $CO_2$ | 56.2 Proc. | $CO_2$ | 59.5 Proc. |
| H | 28.45 „ „ | H | 40.8 „ | H | 38.5 „ |
| $CH_4$ | 1.55 „ „ | $CH_4$ | 0.7 „ | $CH_4$ | 1.1 „ |
| $H_2S$ | 1.9 „ „ | $H_2S$ | 0.4 „ | $H_2S$ | 0.7 „ |
| N | 0.00 „ „ | N | 2.1 „ | N | 0.6 „ |
| | 100.30 Vol.-Proc. | | 100.2 Proc. | | 100.4 Proc. |

Während Hüfner in seiner oben genannten Arbeit bei fünftägiger Digesti von Fibrin mit dem ungeformten Pankreasferment unter vollkommenem Ausschlu niedriger Organismen folgende Gaszusammensetzung fand:

| | 1. | | 2. |
|---|---|---|---|
| $CO_2$ | 6.44 | $CO_2$ | 4.16 |
| N | 93.56 | N | 95.84 |
| O | 0.00 | O | 0.00 |
| | 100.00 | | 100.00 |

und nach zehn- bis zwölftägiger Versuchsdauer

| | 1. | | 2. |
|---|---|---|---|
| $CO_2$ | 37.85 | $CO_2$ | 42.61 |
| N | 62.15 | N | 57.39 |
| O | 0.00 | O | 0.00 |
| | 100.00 | | 100.00 |

Ausserdem ist die Gasentwickelung bei der Fäulniss viel heftiger. In 10. bis 20. Stunde, wo die Fäulniss gewissermaassen auf ihrem Höhepunkt s befindet, geräth die Flüssigkeit in starkes Schäumen. Bei der Eiweissdigestion dem ungeformten Pankreasferment ist die Gasentwickelung viel schwächer, öf hört sie bald ganz auf. Ueberhaupt im Vergleich zu der Energie und Inten tät, mit der die niedrigen Organismen das Eiweiss zersetzen, ist die Einwirkung ungeformten Pankreasfermentes eine sehr schwache. Wie schon aus der G zusammensetzung ersichtlich, ist die Fäulniss wesentlich verschieden von der Z setzung des Eiweisses durch das ungeformte Pankreasferment; es finden bei Fäulniss neben einander ganz entgegengesetzte Vorgänge statt, wie Oxydation Reduction. Dass auch das Indol ein specifisches Ferment der Fäulniss ist und ni etwa aus dem Eiweiss durch das ungeformte Ferment erzeugt werde, geht Evidenz aus den Versuchen Hüfner's hervor und sie sind die einzigen mit der h absolut nothwendigen Genauigkeit ausgeführten. Auch Kühne[2]) in seiner letzt Publication sagt Folgendes hierüber: „Ein Product der Pankreasverdauung ist d Indol sicher nicht, denn es ist mir mittelst vieler Methoden gelungen, die Eiweis stoffe der Wirkung sämmtlicher Pankreasfermente, und zwar nur dieser, unt

[1]) Verhandlungen der phys.-med. Gesellsch. in Würzburg. N. F. **8**, 134.
[2]) Ber. **8**, 208.

absoluter Fernhaltung aller organisirten Fermente, bei den für die Zersetzung günstigsten Verhältnissen wochenlang zu unterwerfen, ohne dass sich Spuren von Indol gebildet hätten."

Ich habe auf der beigedruckten Tafel (Fig. I) die bei der pankreatischen Fäulniss auftretenden Organismen abgebildet. Es sind dies zunächst Kügelchen, rundlich oder oval, deren Durchmesser ich auf 1.2 bis 2.4 Mikrometer bestimmte. Sie sind stark lichtbrechend, in lebhafter molekularer Bewegung begriffen, meistens vereinzelt, doch auch kettenförmig zu zwei, drei, vier, fünf bis acht an einander gereiht (Torulaform; siehe Fig. 1 *d h*). Ohne Zweifel ist dies das gleiche Ferment, wie es von Ferdinand Cohn[1]) als Micrococcus ureae, auch Micrococcus crepusculum = Monas crepusculum Ehrb. bezeichnet wird. Es sind dies die zuerst beim Beginn der Fäulniss sichtbaren Organismen. Sehr bald gesellen sich zu ihnen cylindrische, stäbchenförmige Gebilde von drei bis acht Mikrometer Länge. Sie zeigen nach den verschiedensten Richtungen vor- und rückwärts schnellende und auch rotirende Bewegung (siehe Fig. I *a b*). Sie sind ebenfalls meistens vereinzelt, doch auch paarweise verbunden (Fig. I *g*), Bactéries articulées Béchamp's[2]). Oefters erscheinen die Stäbchen in der Mitte eingeschnürt, wo sie dann an das Pasteur'sche Milchsäureferment erinnern. Ich zweifle nicht, dass diese Stäbchen die Mikrobacterien Cohn's[3]) und zwar sowohl das Bacterium Termo als auch das Bacterium Lineola sind. Während Anfangs die Stäbchen sich nur so vorfinden, wie sie Fig. I *a b* abgebildet sind, sieht man nach 30- bis 40stündiger Digestion, dass das eine Ende, selten beide, des Stäbchens köpfchenartig anschwillt und zu einem ovalen oder rundlichen, stark lichtbrechenden Kügelchen wird (Fig. I *f*), wodurch diese Stäbchen einige Aehnlichkeit mit den Spermatozoïden bekommen. Nach achttägiger und längerer Fäulniss setzt sich ein Theil dieser Bacterien in Form eines schmutzig grauen Niederschlages zu Boden, der unter dem Mikroskope hauptsächlich aus den Köpfchenbacterien besteht; daneben sieht man auch blosse Köpfchen, kenntlich durch ihr starkes Lichtbrechungsvermögen, in gedrängte Gruppen gehäuft. Die Köpfchen an den Bacterien, die offenbar Sporen sind, finden sich auch bei Béchamp (l. c. Fig. 4) als Bacterium capitatum und bei Billroth[4]) als Helobacterien (Entwickelung starkglänzender Sporen in Mesobacterien) abgebildet. Auch von Cohn[5]) werden die Labbacillen (Bacillus subtilis) mit solchen stark lichtbrechenden Köpfchen (Dauersporen) beschrieben und abgebildet.

Ziemlich häufig finden sich in der Verdauungsflüssigkeit Gebilde wie Fig. I *e* gezeichnete. Sie sind bereits auch von Billroth (l. c. Fig. 36 *a*) als Mesococcos (Sporen von Coccobacteria) in Megabacteria abgebildet. Viel seltener und meistens nur im Bodensatze der Flüssigkeit sind die grösseren Kugeln von vier Mikrometer

[1]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Zweites Heft. Breslau 1872, S. 158.

[2]) Des Microzymas et de leurs fonctions aux différents âges d'un même être. Par Joseph Béchamp. 1875. Montpellier et Paris. Fig. 3.

[3]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Zweites Heft. S. 167.

[4]) Untersuchungen über Vegetationsformen der Coccobacteria septica. Berlin 1874. Fig. 37 *b c*.

[5]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Heft 3, S. 188.

Durchmesser, Fig. I *i* zu finden. Man könnte sie noch am ehesten mit den von Billroth (Fig. 17 *G*) als Gliacoccoskugeln beschriebenen vergleichen.

Schliesslich muss ich noch hier der fadenförmigen Gebilde von 12 bis 20 Mikrometer Länge erwähnen (Fig. I *k*). Ihr Aussehen, Grösse und Bewegungen stimmen genau mit der Beschreibung überein, wie sie Cohn für das Buttersäureferment — Bacillus subtilis — giebt. Ich habe sie constant bei jeder pankreatischen Fäulniss, jedoch in viel geringerer Menge als die Bacterien, gefunden; auch war nie in ihnen die Köpfchen- (Dauersporen-) bildung zu sehen.

Es liegt mir ferne, die Frage zu discutiren, ob die hier auftretenden Fermente nur verschiedene Vegetationsformen einer und der nämlichen Art sind. Diese Ansicht wird neuerdings in Deutschland durch Billroth[1]) vertreten. Der Grösse nach unterscheidet er sowohl bei den Kügelchen wie Stäbchen drei verschiedene Stufen, Mikro-, Meso-, Megacoccos, Mikro-, Meso-, Megabacteria. Diese Kügelchen (Coccos) sind Sporen, welche sich durch Theilung vermehren können, nach der Theilung als ungeordnete Haufen (Coccogliahaufen) fortbestehen oder in Form von Ketten längere Zeit cohärent bleiben (Streptococcos, entsprechend der Torulaform des Mikrococcos von Cohn). In den meisten Fällen strecken sich die aus den Dauersporen ausgetretenen blassen Kügelchen bald in die Länge und werden zu stabförmigen Körpern (Bacterien), die nach einiger Zeit der Ruhe beweglich werden und in der Flüssigkeit herumschwimmen. Theils schon während dieser Schwärmperiode, theils nachdem sie sich irgendwo festgesetzt haben, beginnen die Bacterien sich länger zu strecken, werden in der Mitte quer durchfurcht, so dass aus einer zwei, oder aus je zwei wieder je zwei werden u. s. w. Die Querfurchungen der Bacterien folgen der Streckung eben abgefurchter Bacterienstücke zuweilen so schnell, dass der Längsdurchmesser der Glieder endlich nicht grösser ist als der Querdurchmesser; sie werden auf diese Weise viereckig, endlich rund, so dass kein Unterschied mehr zwischen Bacterien und Coccosketten besteht. In Frankreich hat die Ansicht von dem Polymorphismus der Fermentorganismen schon seit langer Zeit ihre Vertreter, wogegen jedoch Pasteur[2]) noch in seiner letzten Publication entschieden Stellung nimmt und z. B. die Behauptung Béchamp's, dass das Mycoderma aceti nichts Anderes als ein Conglomerat der Microzymas Béchamp's sei — die in verschiedenen zuckerhaltigen Flüssigkeiten bei Gegenwart von kohlensaurem Kalk zu Bacterien werden, welche daraus Butter-, Milch- und Essigsäure bilden, ohne Kalkcarbonat aber sich in Hefezellen verwandeln und Alkoholgährung hervorrufen — durch directe Versuche widerlegt.

Es ist ein charakteristisches Merkmal der Fäulniss, dass nie auf einmal die ganze Menge der Proteïnsubstanz gelöst, resp. zersetzt wird, sondern noch viel davon unverändert ist, wenn in der Lösung schon die einfachsten Producte, wie Kohlensäure und Ammoniak, sich finden. Soweit ich beurtheilen kann, scheint mir die erste Einwirkung der geformten Fermente auf die Proteïnmaterie die Hydratation zu sein d. h. zunächst Ueberführung des etwa unlöslichen Eiweisses in lösliches und sodann

[1]) Untersuchungen über Coccobacteria septica, S. 32.

[2]) Etudes sur la bière. 1876. Paris.

Spaltung in diejenigen Producte, die durch die Einwirkung von Säuren, Alkalien oder auch der ungeformten Fermente aus dem Eiweiss erhalten werden; also Leucin, Tyrosin, Glycocoll, Asparaginsäure, Glutaminsäure und Peptone. Auch kohlensaures Ammoniak entsteht zunächst durch Hydratation, wie dies Jeder durch Kochen von Eiweiss mit Säuren oder Alkalien beobachten kann. Es entspricht diese Beobachtung der Ansicht Schützenberger's vollkommen, dass das Eiweissmolekül ein complexes Ureid ist. Bekanntlich fand Schützenberger, dass bei der Hydratation der Eiweissstoffe durch Barythydrat das Verhältniss der entstandenen Kohlensäure und des Ammoniaks stets wie 1 : 2, d. h. wie im Harnstoff ist. Ich halte es für sehr wahrscheinlich, dass die Hydratation des Eiweisses bei der Fäulniss durch die oben beschriebenen Kügelchen von 1.2 bis 2.4 Mikrometer Durchmesser = Monas crepusculum Ehrb., Micrococcus ureae Cohn's, die ja auch bei Beginn der Fäulniss zuerst sichtbar sind, bewirkt wird. Sie sind auch die Ursache des gleichen chemischen Vorganges bei der ammoniakalischen Gährung des Harnes.

Sehr bald, so dass er zeitlich von dem vorigen kaum zu trennen ist, findet ein anderer chemischer Vorgang in der faulenden Flüssigkeit statt, nämlich die Reduction. Ich muss es vorläufig unentschieden lassen, ob die Reductionsproducte, wie Wasserstoff, Grubengas, Schwefelwasserstoff und wahrscheinlich auch Indol, direct aus der Proteïnsubstanz, oder erst aus den Hydratationsproducten entstehen. Es bedarf dazu noch mancher Versuche, mit denen ich beschäftigt bin. Nur will ich hier bemerken, dass, wenn die Bildung dieser Gase eintritt, in der faulenden Flüssigkeit stets, sowohl die Mikrobacterien, als auch die langen Fäden von Bacillus subtilis sich vorfinden.

Was die Oxydationsvorgänge betrifft, die ebenfalls ziemlich bald bemerkbar werden — die Valeriansäure z. B. lässt sich schon in der achten bis zehnten Stunde durch die Guanaminreaction nachweisen —, so glaube ich, dass die Oxydationsproducte sowohl durch directe Oxydation der Proteïnsubstanz, wie dies der Versuch mit Gelatine nach 17stündiger Digestion zeigt, wo kein Leucin, wohl aber Valeriansäure erhalten wurde, als auch durch Oxydation der zuerst entstandenen Amidosäuren gebildet werden. Das verbrennende Ferment sind hier die Mikrobacterien, die sich hier nun in unzähliger Menge vorfinden und durch Sporenbildung (Köpfchenbacterien) vermehren. Ist irgend eine Menge Eiweiss durch Hydratation umgewandelt, so dienen die entstandenen Producte, und wie es scheint namentlich Leucin, ihnen zur Ernährung; die Hydratationsproducte werden durch sie oxydirt. So erklärt sich, dass in den ersten Tagen neben einfach gelöstem Eiweiss und den Hydratationsproducten auch schon die flüchtigen Fettsäuren in der faulenden Flüssigkeit sich vorfinden. In dieser Weise geht die Zersetzung weiter fort, die Menge des Eiweisses wird immer geringer und die der flüchtigen Fettsäuren, die als Ammoniaksalze gelöst bleiben, nimmt immer zu. Das durch Abspaltung der Harnstoffgruppe aus dem Eiweiss entstandene $CO_3(NH_4)_2$ verflüchtigt sich allmählich, resp. wird durch die stets zunehmende Menge der flüchtigen Fettsäuren zersetzt. Die Anfangs starke Gasentwickelung lässt nach vier bis fünf Tagen allmählich nach, ohne jedoch gänzlich aufzuhören, was mir dadurch bedingt scheint, dass nunmehr die Oxydationsprocesse die Reduction bedeutend überwiegen und die Reductionsgase nur sehr spärlich entwickelt werden. In der Flüssigkeit findet man dann, je nach der Zeit, wo die

14*

Fäulniss unterbrochen wird, die oben beschriebenen Producte. Dass die Amidosäuren diesen Organismen gegenüber verschiedene Resistenzfähigkeit zeigen, habe ich schon vorhin erwähnt.

Nach Pasteur kann die Natur eines organisirten Fermentes nicht durch die mikroskopische Structur, sondern nur durch die physiologische Function sichergestellt werden. Dieses Eintheilungsprincip ist jedenfalls unbrauchbar, wie ich das in einer späteren Publication ausführlicher begründen werde. Es ist aber im höchsten Grade unwahrscheinlich, dass der gleiche Nährstoff in so entgegengesetzter Richtung, wie dies bei der Fäulniss der Fall ist, durch das gleiche organisirte Ferment zersetzt wird, dass z. B. Grubengas und Valeriansäure durch das gleiche Ferment aus dem Eiweiss gebildet werden. Mikroskopisch lassen sich leicht in der faulenden Flüssigkeit hauptsächlich die drei folgenden Fermente unterscheiden 1. das Monas crepusculum Ehrb., 2. die Mikrobacterien und 3. die langen Fäden von Bacillus subtilis. Ich bin der Ansicht, dass jedes dieser geformten Fermente eine verschiedene chemische Zersetzung der Proteïnsubstanz bewirkt, wodurch auch das gleichzeitige Auftreten der Reductions- und Oxydationsproducte erklärt wird. Die Kenntniss der Fäulnissprocesse wird erheblich befördert, sobald es gelingt, Eiweiss der isolirten Einwirkung jedes dieser Schizophyten bei Luftzutritt und Luftausschluss zu unterwerfen. Aus allem Vorhergegangenen ist aber schon jetzt ersichtlich, dass es geradezu ungereimt ist, die Zersetzung der Eiweissstoffe durch die ungeformten Fermente mit der durch die geformten Fermente als ähnlich oder gar identisch in ihren Spaltungsproducten zu betrachten. Abgesehen davon, dass bei der Einwirkung ungeformter Fermente auf Eiweiss bis jetzt das Auftreten der Reductionsgase oder Oxydationsproducte, wie flüchtige Fettsäuren, nie beobachtet wurde, müsste, damit der Vergleich erst Sinn bekommt, der complexe Fäulnissprocess entwirrt und in seinen Einzelvorgängen aus einander gehalten werden.

Es unterliegt keinem Zweifel, dass die Keime (Sporen) der Fäulnissfermente in den meisten Geweben des lebenden Thierkörpers enthalten sind. Meines Wissens ist es A. Béchamp[1]), der zuerst unter den Molekularkörnchen (körnigem Detritus u. s. w.) diese Mikrococcos von 0.5 bis 3 Mikrometer im Durchmesser, von ihm Mikrozymas genannt, als Fermentorganismen auffasste und gegen verschiedene Angriffe sie als solche mit Entschiedenheit verfocht. A. Béchamp hat sodann auf Grund seiner gemeinschaftlich mit Estor[2]) ausgeführten Untersuchungen die drei folgenden Sätze aufgestellt:

1. Dans toutes les cellules animales examinées, il existe des granulations normales, constantes, nécessaires, analogues, à ce que M. Béchamp a nommé microzyma:

2. A l'état physiologique, ces microzymas conservent la forme apparente d'une sphère;

3. En dehors de l'économie, sans l'intervention d'aucun germe étranger, les microzymas perdent leur forme normale: ils commencent par s'associer en chapelet. ce dont on a fait un genre à part sous le nom de Torula; plus-tard, ils s'allongent de manière à représenter des bactéries isolées ou associées.

[1]) Des Microzymas etc., par Joseph Béchamp. Montpellier et Paris. 1875.

[2]) Compt. rend. **66**, 859. 1868.

Man sieht, dass die späteren Untersuchungen von Billroth und Tiegel in ihren Resultaten nur die Bestätigung der drei obigen Sätze sind.

Es gebührt aber Tiegel[1]) das Verdienst, durch unanfechtbare Versuche das Vorkommen dieser Keime in den gesunden Geweben des lebendigen Thierkörpers nachgewiesen zu haben. Ich habe öfters beim Rind und Hunde, sofort nach Tödtung des Thieres, die Bauchspeicheldrüse mikroskopisch untersucht und niemals die Anwesenheit dieser molekularbeweglichen Kügelchen von 0.5 bis 2.5 Mikrometer Durchmesser vermisst. Sie sind offenbar die Microzymas Béchamp's, oder Coccos Billroth's = Monas crepusculum Ehrenberg. Nie habe ich jedoch darin Stäbchen = Mikrobacterien Cohn's gesehen; nach zwei bis vier Stunden werden die Torulaformen meistens zweigliedrig, und erst später die cylindrischen Stäbchen sichtbar. Ich muss es unentschieden lassen, ob die verschiedene Grösse dieser Sporen (s. Taf. II, Fig. II) zu der Annahme berechtigt, dass sie Sporen verschiedener Arten dieser Schizophyten sind. Dieser Annahme steht aber bis jetzt nichts entgegen. Wie schon erwähnt, sind diese Kügelchen die ersten, beim Beginn der Fäulniss sichtbaren Formelemente. Durch sie allein wird die Zersetzung des Eiweisses eingeleitet. Es bedarf dazu nicht des ungeformten Pankreasfermentes. 3 bis 5 g der frischen Drüsensubstanz enthalten genug von diesen organisirten Keimen, um die Zersetzung auch grosser Mengen von Proteïnsubstanz zu bewirken. Die kleine Menge leistet genau die gleichen Dienste wie eine ganze Drüse von 300 bis 500 g Gewicht. Sie kann unbegrenzte Mengen Proteïnsubstanz in die oben genannten Producte zersetzen, denn der Grad der pankreatischen und wohl jeder anderen Fäulniss ist bei 40° C. allein von der Zeitdauer abhängig.

Was zeitlich die Entwickelung der Fäulniss an der Luft, ist in den meisten Fällen räumlich das Darmrohr eines Thieres. Ich habe sehr oft den Darminhalt noch lebender oder soeben getödteter Hunde mikroskopisch untersucht. Der Befund war in allen Fällen ziemlich der gleiche. In den obersten Theilen des Dünndarmes, vom Pylorus an, sind nur wenige und fast nur die Mikrococcos sichtbar. Verfolgt man in kurzen Absätzen den Darminhalt nach unten, so sieht man in jedem Tropfen der weiteren Partie eine grössere Anzahl Kügelchen und auch vereinzelte cylindrische Stäbchen werden nunmehr sichtbar. In der unteren Hälfte des Dünndarmes wird man aber sowohl die Kügelchen, Stäbchen, als auch die langen Bacillusfäden nie vermissen. Mit der zunehmenden Menge wird auch der stinkende Geruch des Speisebreies intensiver. Der Hauptort dieser Organismen scheint jedoch der Dickdarm zu sein. Die mir von den verschiedenen Fäulnissversuchen her bekannten Gerüche sind hier am intensivsten. Sie werden ausser dem $SH_2$ und den flüchtigen Fettsäuren wohl hauptsächlich durch das Indol, namentlich aber durch die von Herrn Sécretan[2]) in meinem Laboratorium aus Eiweiss, nach achtmonatlicher Fäulniss unter Wasser erhaltenen aromatischen Substanz verursacht. Sie hat einen höchst widerwärtigen, exquisit fäcalen Geruch, der sich noch am besten mit dem des Naphtylamins vergleichen lässt, nur ist er viel intensiver.

---

[1]) Virchow's Archiv. **60**, 453.

[2]) Recherches sur la putréfaction de l'albumine. Dissertation inaugurale de Berne et Archive des sciences de la Bibliothèque universelle. Genève. 1876.

Nachdem wir gesehen haben, dass die geformten Fermente Eiweiss und Kohlenhydrate in lösliche Modification überführen und sie mit viel grösserer Intensität, als dies die ungeformten Fermente, wie etwa das Pepsin oder Pankreatin es je im Stande sind, spalten, andererseits ihr Vorkommen im Darmrohr ausser allem Zweifel steht, war es geboten, die Einwirkung dieser geformten Fermente auf die Nahrungsstoffe zu untersuchen. Die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei Luftzutritt ist oben beschrieben. Mit Untersuchungen über die Zersetzung der Eiweissstoffe und Kohlenhydrate bei vollkommenem Luftabschluss durch die geformten Pankreasfermente ist Herr Jules Jeanneret in meinem Laboratorium gegenwärtig beschäftigt. Hier will ich nur erwähnen, was ja auf Grund der Versuche von Tiegel zu erwarten war, dass die geformten Pankreasfermente Anaërobien sind und die Gegenwart oder das Fehlen des Sauerstoffs für den Eintritt und Verlauf der Fäulniss gleichgültig ist.

Welchen Antheil nehmen die geformten Fermente an der normalen Verdauung und bis zu welchem Grade werden die Nahrungsstoffe durch sie im Darmrohr zersetzt? Die moderne Physiologie und Pathologie, namentlich aber die letztere, die mit ängstlicher Sorge bei jeder Infectionskrankheit nach Infectionspilzen sucht, hat diesen normalen und in so grosser Menge constant im Thierkörper vorkommenden Organismen bis jetzt keine gebührende Beachtung geschenkt. Eine genaue Antwort auf die obige Frage ist nicht möglich. Die Zersetzung der Nahrung im Darme durch die geformten Fermente wird abhängig sein von der Zusammensetzung, dem kürzeren oder längeren Verweilen des Speisebreies im Darmrohr und manchen anderen Umständen, deren Erforschung der Zukunft vorbehalten bleibt. Dass diese Schizophyten für die Verdauung bedeutungslos seien, wird kein vorurtheilsfreier Beobachter behaupten können. Die Lehre von der Verdauung kann diese Thatsachen nicht mehr ignoriren.

Das wichtigste Hinderniss für die Entfaltung der Gährung und Fäulniss im Darme liegt, wie mir scheint, in der Resorption; sobald die Nahrungssubstanz in die lösliche Modification übergeführt und resorbirt worden, ist sie der Einwirkung der geformten Fermente entzogen. Beim Rind und anderen Pflanzenfressern, wo das Nahrungsmaterial nur langsam gelöst wird und der Darmcanal stets mit Speisebrei erfüllt ist, wird der Antheil, den die niedrigen Organismen an der Verdauung haben, gewiss grösser sein als wie etwa beim Fleischfresser. Ich bin daher der Ansicht, dass die organisirten Fermente im Darm der Herbivoren in diesem Sinne verdauungsbefördernd, d. h. ihnen für diesen Zweck nützlich sind. Da das Indol ein Spaltungsproduct aus dem Eiweiss durch die niedrigen Organismen ist, so kann eine vermehrte Indigoausscheidung als das Zeichen einer intensiveren Fäulniss im Darm aufgefasst werden. Nach Jaffé's Bestimmungen wird von den Herbivoren durchschnittlich 23 mal mehr Indigo als vom Menschen ausgeschieden. Seit der Arbeit von Tiedemann und Gmelin ist keine genauere chemische Analyse des Darminhaltes ausgeführt worden. Die Resultate der vorliegenden Arbeit zeigen zur Genüge, wie wünschenswerth die Wiederholung dieser Untersuchungen mit den exacteren, neueren analytischen Methoden ist.

Fäulniss ist nur ein besonderer Fall der Gährung im Allgemeinen, d. h. der

Zersetzung organischer (kohlenstoffhaltiger) Substanzen durch geformte Fermente. Eine stricte Abgrenzung der Fäulniss, d. h. der Gährung stickstoffhaltiger Substanzen von den Gährungsprocessen im Allgemeinen, ist schon deshalb nicht möglich, weil die geformten Fermente in stickstofffreier, z. B. zuckerhaltiger Lösung zu ihrer Ernährung auch organischer und stickstoffhaltiger Materie bedürfen. Andererseits zeigte Ferdinand Cohn, dass die Mikrobacterien — Fäulnissfermente par excellence — in völlig normaler Weise und in grösster Ueppigkeit sich vermehren, sobald sie die erforderlichen Aschenbestandtheile und gebundenen Stickstoff in Lösung vorfinden. Den Kohlenstoff können sie aus den verschiedensten organischen Verbindungen entnehmen.

Weinsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure, Essigsäure, Zucker, Glycerin und Cellulose, sobald dabei eine Stickstoff liefernde Quelle, z. B. salpetersaures $NH_3$ oder Harnstoff und die nöthigen Aschenbestandteile zugegen sind, werden von den Bacterien assimilirt, wobei sie sich ins Millionenfache vermehren und den Kohlenstoff der organischen Verbindung zu Kohlensäure verbrennen.

Cohn (Beiträge zur Biologie der Pflanzen 1872, Heft 2, S. 202) bemerkt, dass die Bacterien mit den grünen Pflanzen darin übereinstimmen, dass sie den in ihren Zellen enthaltenen Stickstoff in Form von Ammoniakverbindungen assimiliren, was die Thiere nicht vermögen. Sie unterscheiden sich dagegen von den grünen Pflanzen dadurch, dass sie den Kohlenstoff nicht aus der Kohlensäure zu entnehmen vermögen, sondern nur organische, kohlenstoffhaltige Verbindungen assimiliren und in dieser Beziehung mit den Thieren übereinstimmen. Das charakteristische Merkmal der Bacterien ist aber das, dass sie Anaërobien sind und den Sauerstoff, den sie zur Oxydation der organischen Kohlenstoffsubstanz bedürfen, aus der Nährsubstanz selbst entnehmen.

Interessant ist die Beobachtung, dass die Bacterien zu ihrer Ernährung wirklich verbrennbarer Kohlensubstanz durch directe Sauerstoffzufuhr bedürfen. Nach Cohn ist von den Kohlenstoffverbindungen ausser kohlensaurem Ammoniak nur noch Harnstoff kein Nährstoff für die Bacterien. Harnstoff geht aber einfach durch Hydratation in Kohlensäure und Ammoniak über. Es ist ein Product des thierischen Eiweissumsatzes und kann deshalb nicht Material für diesen Umsatz sein.

Der causale Zusammenhang der Bacterien mit der chemischen Zersetzung der Proteïnkörper bei der Fäulniss steht ausser allem Zweifel. Aus der vorliegenden Arbeit ist es jedoch ersichtlich, dass die Erforschung des chemischen Mechanismus dieses biologischen Processes erst in ihrem Anfangsstadium sich befindet. Detaillirte Ausarbeitung, genauere chemische Charakterisirung der Spaltungsproducte, namentlich des als Peptone bezeichneten Rückstandes, gleichzeitig aber sorgfältige morphologische Studien dieser kleinsten Organismen — das Alles ist für die zukünftige Forschung ein schwieriges, aber, wie ich glaube, lohnendes Gebiet.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, den Herren Dr. J. H. Jäger und Dr. Jules Jeanneret für ihre werthvolle Unterstützung bei diesen Untersuchungen meinen aufrichtigen Dank an dieser Stelle auszusprechen.

Erklärung der Tafel.

Fig. I. Geformte Fermente in einer Gelatinelösung nach 2 tägiger Digestion mit Pankreas bei 40° C. *a, b* Stäbchenbacterien; *c* mehr ovale Form. *d, h* 2- und 3 gliedrige Coccosform; *e* Coccos in Bacteria; *f* Bacteria mit Sporenbildung; *g* Diplobacteria; *i* Mikrococcos in grösseren Kugeln; *k* Bacillus subtilis.

Fig. II. Pankreas eines soeben getödteten Hundes. *a* Drüsenzellen; *b* rothes Blutkörperchen; *c* Coccos (Mikrozymas) bei *f* schon dreigliederig vereint.

Fig. III. Geformte Fermente im unteren Theil des Dünndarms des gleichen Hundes. Man sieht hier vorwiegend die Bacillusform. *a* Coccos; *b* Coccos in Bacteria; *c* Stäbchen; *d* mit Sporenbildung an beiden Enden; *e* grössere ovale Kugel; *f* Bacillus subtilis.

Fig. IV. Béchamp's Mikrozymas (des Mikrocozymas u. s. w., Fig. II). *a* Leberzellen; *b* Mikrozymas associirt; *c* Torulaform der Mikrozymen.

---

Die Figuren I, II und III sind mit Seibert's Ocular III, Objectiv VII Immersionssystem, Vergrösserung 1150, gezeichnet.

---

# Recherches sur la putréfaction de l'albumine et sur sa transformation en graisse

par

**A. Sécretan.**

In.-Diss. Bern. — Archive de sciences de la Bibliothèque universelle. Genève.

Les preuves de la transformation de l'albumine en matières grasses, aussi bien les preuves tirées de la physiologie que celles fournies par la chimie et la pathologie, ne sont pas encore assez concordantes pour qu'on puisse admettre positivement que la graisse est un produit de décomposition de l'albumine.

La physiologie nous apprend que les animaux nourris exclusivement de viande dégraissée, n'engraissent pas, mais produisent cependant encore de la graisse. Celle-ci préexistant déjà dans l'organisme, rien ne prouve qu'elle soit formée par la viande.

Tscherinoff[1]), en nourrissant des poules uniquement de viande maigre, les vit engraisser d'une façon extrême, mais viande maigre ne veut pas dire dégraissée.

Fischer dit que les abeilles continuent à produire de la cire lorsqu'elles ne se nourrissent que d'albumine et de sucre.

Voit et Berlepsch attribuent l'augmentation de la production de la cire par des abeilles nourries exclusivement de sucre et de pollen, à l'albumine contenue dans

---

[1]) Kühne, Physiol. Chemie, p. 372.

le pollen. Mais V. Schneider[1]) démontre clairement que la petite quantité d'albumine du pollen ne suffirait pas pour augmenter la production de la cire d'une façon relativement si considérable. Ce serait plutôt le sucre qui remplirait ce but. Gundelach a du reste prouvé qu'en nourrissant des abeilles uniquement avec du sucre de raisin, la cire continuait à être produite.

La fermentation ne nous fournit pas de preuves plus positives. Examinons en premier lieu la formation de l'adipocire.

En ouvrant au cimetière des Innocents[2]) les fosses communes dont les plus grandes contenaient jusqu'à 1500 cadavres entassés les uns sur les autres et enterrés depuis 15 ans, on y trouva du gras de cadavre représenté par des masses irrégulières, d'une substance grisâtre, molle, friable. Leur aspect, leur forme et leur consistance les faisaient ressembler à du fromage blanc ordinaire; le linceul avait laissé une impression à leur surface. L'odeur n'en était pas repoussante; à quelques endroits les muscles pouvaient encore être reconnus à leurs fibres et à leur couleur plus ou moins rouge.

Orfila décrit un estomac, un morceau de peau et deux testicules, qu'il avait enterrés huit mois auparavant, comme étant transformés en une graisse jaunâtre, ayant l'odeur du fromage de Roquefort et étant composée d'acides gras et de chaux. D'après Chevreul, en effet, le gras de cadavres[3]) est un savon d'ammoniaque, de potasse et de chaux, combiné avec beaucoup d'acide margarique et un peu d'acide oléique.

Trouvé sur des corps enterrés seulement depuis 3 à 5 ans, le gras de cadavres est mou, flexible, léger et contient beaucoup d'eau; tandis que provenant de cadavres enterrés depuis 30 à 40 ans, il est sec, friable, en feuillets blancs serrés, quelquefois transparent, ressemblant à de la cire. La couleur en est parfois très-brillante, à reflet argenté. Par la chaleur, le gras de cadavres devient mou et fond d'après Gibbes[4]) à 160° F., se solidifie à 110°.

D'après Orfila, le gras de cadavres ne se forme que là où il existe de la graisse et une matière azotée; la substance grasse fournit les acides margarique et oléique et la matière animale, l'ammoniaque[5]).

Voilà l'origine du gras de cadavres.

En effet, sa formation ne pourrait provenir d'autres sources, puisque les muscles isolés ne se transforment que difficilement en gras de cadavres, et seulement lorsqu'ils sont très-riches en graisse.

D'un autre côté, la graisse séparée des parties contenant l'ammoniaque, exsangue et lavée dans la potasse ne se change pas en gras de cadavre.

Lesueur et Orfila ont encore montré que la peau ne se transforme en cette dernière substance que lorsque le tissu cellulaire sous-cutané n'a pas été enlevé.

Il est certaines circonstances qui influent sur la formation du gras de cadavres dans la terre.

---

[1]) Annalen der Chemie und Pharmacie, **161**, 235. 1872.

[2]) Orfila, Méd. lég.

[3]) Dict. de méd. Robin et Littré, 1865, p. 682.

[4]) Verhandlungen der physic.-med. Gesellschaft in Würzburg, **3**, 370.

[5]) Orfila, Méd. lég.

Les cadavres ne sont complétement transformés en matières grasses qu'après 3 ans de séjour en terre; dans l'eau la transformation est plus rapide.

Celle-ci n'a jamais été observée d'une manière complète sur des corps enterrés isolément, mais bien sur des cadavres enterrés par groupes.

Dans les fosses communes, les cadavres qui sont au fond de la fosse paraissent se transformer les premiers.

La transformation n'est pas également rapide dans chaque terre.

Une épaisse couche de terre au-dessus est nécessaire.

Les corps gras et robustes se transforment plus rapidement, les maigres se momifient plutôt.

Le sexe n'a pas d'influence.

Les jeunes se transforment plus vite que les vieux.

Voici comment Orfila explique la formation du gras de cadavres: Tout fait croire que les cadavres entassés dans les fosses se décomposent d'abord, comme dans les fosses où il n'y a qu'un seul cadavre ou comme à l'air; mais qu'après un temps déterminé, une autre espèce de décomposition se produit, c'est-à-dire la transformation en graisse. Les causes de la saponification paraissent dépendre de ce que la terre. dans les fosses communes, est trop peu considérable pour la quantité innombrable de cadavres, et que par là elle est bientôt saturée des produits volatils de la putréfaction. Elle arrête celle-ci par le fait qu'elle ne recueille plus ses produits. Le contraire aurait lieu si les cadavres se décomposaient à l'air ou isolément dans la terre, c'est-à-dire que la décomposition continuerait comme elle a commencé, parce que les gaz ont libre issue dans l'air ou peuvent être absorbés dans la terre.

Comme les produits gazeux de la putréfaction dans les fosses communes agissent de nouveau sur les parties molles, ou bien sont retenus dans les tissus, il apparait une nouvelle sorte de décomposition.

Nous laisserons de côté les théories émises autrefois par Fourcroy et Thouret.

L'adipocire a été produite artificiellement. Gibbes[1]) en a formé par l'action de l'eau courante et de l'acide nitrique. Quain[2]) cite la transformation en adipocire d'un cœur normal d'enfant dans de l'alcool dilué (1 d'alcool sur 8 d'eau).

Le microscope montra des changements analogues à ceux de la dégénérescence graisseuse pendant la vie. Les mêmes phénomènes se passèrent dans un cœur de mouton ayant séjourné dans l'acide nitrique dilué.

Quain dit encore, en décrivant un morceau de muscle des lombes d'un cheval:

La substance avait le même aspect que le blanc de baleine, mais était plus foncée et plus friable. A la surface on voyait des traces rouges représentant les limites du faisceau musculaire. Cette matière répandait une odeur ammoniacale, elle flottait sur l'eau et était presque entièrement soluble dans l'éther; la quantité insoluble présentait au microscope un réseau de fibres disposées parallèlement par places. L'évaporation de la solution éthérée produit des masses granuleuses et graisseuses. L'adipocire elle-même présente au microscope des rubans opaques

[1]) Philos. Transactions, 1794—1795.

[2]) Med. chir. Trans. **33**, 140, 1850.

formés de cristaux en feuillets et des disques plans consistant en aiguilles radiées. Par l'éther tout disparait, à l'exception des fines fibres. Il s'est donc produit de la graisse.

Virchow[1]) remarqua les mêmes transformations dans une jambe et un pied qui avaient macéré pendant une année dans de l'eau courante. Il s'était formé une substance légère, blanche, possédant toutes les propriétés, particulièrement le même point de fusion, que l'adipocire véritable.

Les muscles étaient transformés et remplis de masses graisseuses et granuleuses. La graisse fond facilement, se refroidit ensuite facilement et cristallise en perles rondes blanches et en aiguilles radiées. La peau de cette jambe, décomposée en grande partie, était couverte de nombreux champignons du genre Penicillum, probablement le même que Blondeau, comme nous le verrons, a trouvé sur le fromage de Roquefort.

L'adipocire artificiellement produite par la putréfaction lente des tissus contenant de l'albumine, particulièrement des muscles, renferme, d'après les analyses de Wetherill[2]) de l'acide palmitique qui, d'après les observations de Hoppe, serait lié à de l'ammoniaque.

L'albumine, en effet, semble être ici la source de la production de la graisse; mais ne faut-il pas aussi tenir compte de la graisse contenue primitivement dans les tissus?

Jusqu'ici il n'a pas encore été fait d'analyse prouvant que la graisse trouvée dans l'adipocire n'était pas la même que celle qui préexistait dans les tissus, ni qu'elle provint directement de l'albumine ou bien d'une autre substance.

On ne peut donc pas affirmer d'une manière positive et exclusive que la graisse provienne de l'albumine.

La fermentation nous fournit un autre fait qui semble être une preuve presque évidente de la transformation des substances albuminoïdes en graisse.

En effet, Blondeau[3]), dans ses intéressantes recherches sur les changements chimiques qu'éprouvent les fromages de Roquefort, pendant leur séjour dans les caves, a trouvé que la caséine se transformait en matières grasses.

L'analyse du fromage frais, c'est-à-dire tel qu'on l'apporte dans les caves de Roquefort, donna les résultats suivants:

100 grammes de ce fromage contenaient:

| | |
|---|---|
| Caséine | 85.43 |
| Matière grasse | 1.85 |
| Acide lactique | 0.88 |
| Eau | 11.84 |
| | 100.00 |

La petite quantité de matière grasse ne peut, d'après Blondeau, être qu'un peu de beurre entrainé mécaniquement pendant la préparation du fromage.

---

[1]) Verhandlungen der phys. med. Gesellschaft in Würzburg. **3**, 369.
[2]) Kühne, Physiol. Chemie. 373.
[3]) Annales de chimie et de physique, 4me série, I, 1864, p. 208.

Après un mois de séjour dans les caves, ce fromage change complètement d'aspect. La caséine ressemblait à un corps gras.

100 grammes de fromage contenaient:

| | |
|---|---|
| Caséine | 61.33 |
| Matière grasse | 16.12 |
| Chlorure de sodium | 4.40 |
| Eau | 18.15 |
| | 100.00 |

La caséine avait diminué, la matière grasse augmenté.

Une troisième analyse faite sur 100 grammes du même fromage, mais qui avait séjourné 2 mois dans les caves et qui avait acquis toutes les qualités qu'il était susceptible d'acquérir donna pour résultat:

| | |
|---|---|
| Caséine | 43.28 |
| Matière grasse | 32.31 |
| Acide butyrique | 0.67 |
| Chlorure de sodium | 4.45 |
| Eau | 19.16 |
| | 99.87 |

Les 32.3 parties grasses étaient composées de 18.3 de margarine et 14.0 d'oléine.

Blondeau fit une quatrième analyse de 100 grammes du même fromage ayant séjourné 2 mois dans les caves et une année hors des caves. Celui-ci était devenu brun et avait acquis une odeur et un goût forts et piquants. Leurs parties constituantes étaient représentées par:

| | |
|---|---|
| Caséine | 40.23 |
| Margarine | 16.85 |
| Oléine | 1.48 |
| Chlorure de sodium | 4.45 |
| Eau | 15.16 |
| | 78.17 |

Les substances qui manquent sont en solution dans l'eau, dans laquelle Blondeau trouva des acides butyrique, caproïque, caprique et caprylique.

Ces acides sont saturés par de l'ammoniaque dans le fromage de Roquefort qui a vieilli et forment du butyrate, du caproate, du caprate et du caprylate d'ammoniaque. C'est au caprate d'ammoniaque que Blondeau attribue la saveur piquante du vieux fromage de Roquefort. Quant à la cause de la transformation de la caséine en matières grasses, il l'attribue au végétal mycodermique du genre Penicillum, qui se forme sur le fromage dès qu'il est placé dans les caves.

Des observations analogues furent faites peu de temps après par Brassier[1]), mais avec des résultats différents.

Celui-ci analysa 300 grammes de fromage qui avait séjourné 2 mois dans la cave du Conservatoire des Arts et Métiers. Ce fromage avait l'odeur de Roquefort et était couvert de végétations mycodermiques, mais les 300 grammes avaient perdu

[1]) Henle und Meissner, Jahresbericht 1865, p. 332.

10 grammes de substance grasse, et contenaient de la leucine et de l'ammoniaque; la caséine avait diminué. La même quantité de fromage après 4 mois de séjour dans la cave, ainsi qu'après 7 mois, avait perdu une quantité de graisse encore plus considérable.

Mais Brassier ne paraît pas avoir recherché la cause de la différence entre ses résultats et ceux de Blondeau, ni avoir examiné la question de savoir si la préparation du fromage et les différences entre les lieux de conservation n'avaient pas eu d'influence. Il s'est contenté de contredire Blondeau.

La chimie ne nous fournit pas de preuves directes de la transformation de l'albumine en graisse, car par l'oxydation des corps albuminoïdes on n'a pu trouver que des acides gras inférieurs. Cette transformation ne pourrait donc être produite que par la fermentation ou par la putréfaction.

Bopp[1]) dit qu'en exposant à l'air un mélange d'albumine, de fibrine ou de caséine et 40—50 fois son volume d'eau à la température de vingt et quelques degrés, on obtient les meilleures conditions pour produire chez ces corps la putréfaction.

La substance solide disparaît bientôt et il se forme un liquide trouble, à odeur caractéristique, et dans lequel les matières primitives sont méconnaissables au bout de 4—6 semaines.

Comme produits de décomposition, Bopp trouva de la leucine et de la tyrosine, en outre une substance sirupeuse se rapprochant de ces deux corps, mais en trop petite quantité pour être analysée, et un corps volatil à odeur caractéristique. Celui-ci cristallise en petits feuillets solubles dans l'éther, qui se colorent en rose et après en rouge brun par l'acide chlorhydrique ou l'acide sulfurique dilué. L'odeur en est excessivement pénétrante.

Bopp ajoute que l'albumine, la fibrine et la caséine se comportent d'une manière semblable quant à leurs produits de décomposition.

Pour pouvoir prouver que l'albumine, dans sa décomposition et dans certaines circonstances semblables à celles dans lesquelles se forme l'adipocire, se transforme en graisse, il faudrait prendre des substances albuminoïdes complètement délivrées de leur graisse et les mettre dans des conditions favorables à la putréfaction. C'est le but du présent travail.

Il y une année environ que M. le professeur Nencki a placé dans la terre, dans l'eau courante et dans l'eau stagnante certaines quantités d'albumine dégraissée préalablement.

Nous avons entrepris de rechercher les produits de décomposition de ces substances, et nous allons décrire les résultats que nous avons obtenus. Nous saisissons l'occasion de remercier M. le professeur Nencki de nous avoir facilité la tâche, soit par les indications qu'il nous a données, soit par la bienveillance qu'il nous a continuellement témoignée.

Nos premières recherches furent faites sur les produits de décomposition de l'albumine dans l'eau courante.

---

[1]) Annalen der Pharmacie, 69—70, 1849.

Le 18 avril 1874, M. le professeur Nencki avait extrait l'albumine de 24 œufs de poule, en les traitant par l'alcool. Cette albumine fut filtrée à l'aspirateur et traitée trois fois par l'éther, de manière à être complètement dégraissée. Il obtint ainsi 92 grammes d'albumine contenant 25.58 p. $^0/_0$ d'eau, ce qui représente 68.5 grammes d'albumine séchée à 110°.

Mis ensuite dans un vase en argile poreuse de 21 cent. de long sur 8 de diamètre et d'une contenance de 750 cent. cubes, le contenu fut humecté; le vase, couvert d'un couvercle en étain, fut enfermé dans une caisse en bois et placé le 20 avril dans de l'eau courante sur le bassin à macération de l'Institut pathologique de Berne.

Le 3 novembre 1874, c'est-à-dire environ 7 mois après, le vase fut ouvert et le contenu mis dans l'éther jusqu'au 11 avril 1875, jour où nous commençons nos recherches.

Après avoir décanté l'éther, nous le distillons et nous obtenons un résidu jaune, à réaction fortement acide, d'un aspect gras et d'une odeur excessivement piquante, pénétrante et désagréable, rappelant l'odeur de l'indol, mais cependant différente. Les matières décomposées sont agitées encore à trois reprises dans de l'éther, et celui-ci est distillé.

Les résidus sont analogues au premier, mais moins considérables. Réunis et mis sur un dessicateur, ils ne tardent pas à cristalliser en petites aiguilles. Le poids du résidu total est de 0.926 gramme.

Nous y ajoutons un peu d'eau distillée, quelques gouttes d'une solution de baryte jusqu'à réaction alcaline, et enfin une petite quantité d'éther. Au fond du vase il se dépose une poussière jaune que nous reconnaissons être du soufre. Le liquide se divise en deux couches, la supérieure jaune claire, l'inférieure d'un blanc sale.

Par la distillation de la première, nous obtenons un corps analogue à l'indol. ayant également une odeur rappelant celle des excréments, et un peu celle de la naphtylamine. Après y avoir ajouté sept fois son volume d'eau, nous chauffons et filtrons, après quoi, par le refroidissement, il se dépose de petits cristaux. Ce qui reste sur le filtre est traité de la même façon et donne de mêmes cristaux, en y ajoutant quelques gouttes d'une solution de soude. Les cristaux sont lavés. Leur eau-mère a une odeur également intense.

Ceux-ci présentent au microscope de petits feuillets irrégulièrement dentelés semblables aux cristaux de l'acide benzoïque.

1. Par l'acide nitrique fumant, il ne se produit pas de précipité rouge, il n'y a pas même trace de coloration rouge: mais il se produit une coloration verdâtre et le liquide se trouble. En chauffant, le trouble disparaît et le liquide devient jaune. Par l'adjonction de quelques gouttes du même acide, l'odeur change et devient analogue à celle du nitrophénol. La couleur reste jaunâtre.

Cette réaction nous prouve l'absence évidente d'indol, qui en solution aqueuse devient rouge par l'addition d'acide nitrique.

2. Le nitrate d'argent ne donne pas de précipité; en chauffant, nous obtenons un dépôt noir d'argent métallique et le liquide se colore en bleu-violet. En ajoutant quelques gouttes d'acide nitrique pur, la couleur devient rouge.

3. Par le chlorure ferrique, le liquide devient opalescent et légèrement bleuâtre; en chauffant on n'a pas de précipité, mais une coloration jaune.

4. Le sulfate de cuivre ne forme pas de précipité.

5. L'acétate de plomb non plus, mais ici le liquide devient opalin.

6. Le chlorure mercurique se comporte comme l'acétate de plomb.

7. Quelques gouttes d'une solution concentrée de soude dans l'eau-mère précipitent de petits cristaux du corps en question; en chauffant, il se produit une odeur très-penétrante, irritant la muqueuse nasale, mais très-différente de l'odeur précédente. Ce changement d'odeur ne se produit pas avec la naphtylamine.

Quelques gouttes d'une solution diluée de soude dans l'eau-mère produisent une couleur rose, qui s'accentue en chauffant; le refroidissement trouble le liquide.

8. L'acide chlorhydrique et l'acide sulfurique dilué donnent une couleur rose clair, surtout en chauffant.

9. L'acide nitrique pur dilué donne à froid une coloration rose violette, qui devient plus intense en chauffant; par l'ébullition le liquide devient subitement jaune sale et se trouble; une substance jaunâtre amorphe, résineuse, flotte dans le liquide et se dépose sur les parois du vase.

Cette réaction par l'acide nitrique est caractéristique pour ce corps qui, n'étant ni de l'indol ni de la naphtylamine, est donc *un nouveau corps chimique.*

Ces cristaux, après une première cristallisation et après avoir été séchés sur l'acide sulfurique, avaient leur point de fusion entre 91° et 92° C., après une seconde cristallisation, à 85°. Mais il était difficile de le déterminer exactement, parce que les cristaux s'affaissaient à mesure qu'ils fondaient.

Le reste de l'extraction par l'éther, c'est-à-dire le liquide contenant la baryte est évaporé et nous donne un résidu très-peu considérable, jaune, presque entièrement soluble dans l'acide chlorhydrique dilué; après avoir filtré et évaporé, nous obtenons de belles aiguilles roses de chlorure de barium; il s'échappe en outre une faible odeur d'acide butyrique.

La substance primitive est maintenant traitée par l'alcool, filtrée, et nous avons un liquide jaune foncé qui présente au microscope de petits cristaux en étoiles.

Par la distillation de ce liquide, il reste une matière brune liquide, sirupeuse, trouble, qui répand une odeur d'excréments diminuant un peu lorsque nous y ajoutons quelques gouttes d'une solution de soude pour neutraliser; il s'en échappe une odeur d'ammoniaque.

Le microscope présente des corps amorphes et de beaux cristaux de leucine, mais pas trace de tyrosine.

Nous ajoutons de l'alcool et nous filtrons.

L'acide chlorhydrique nous démontre l'absence d'acides gras.

Chauffée sur le bain-marie jusqu'à siccité complète, et après avoir été mise sur un dessicateur, cette substance pèse 5.590 grammes.

Après avoir été traitée par l'éther et par l'alcool, la masse primitive présente au microscope des corps amorphes.

Elle est traitée par l'eau bouillante et filtrée. Il reste une masse qui a l'aspect de matières graisseuses, semblables au gras de cadavres. Celle-ci est séchée à l'air,

puis à plusieurs reprises à 100° et 110°. Enfin pulvérisée, et nous obtenons une poudre brunâtre à poids constant de 6.283 grammes.

Cette poudre est reconnue être de l'albumine avec un peu de sels inorganiques, mais il n'y a pas trace de matières grasses. Elle laisse beaucoup de cendres qui dans l'eau distillée donnent une faible réaction alcaline.

Notre *seconde recherche* porte sur de l'albumine décomposée dans la terre.

Le 20 avril 1874, 124 grammes d'albumine contenant 46.1 p. %~0~ d'eau, ce qui représente 66.8 grammes d'albumine séchée à 110°, provenant de 25 œufs de poule et ayant été complètement dégraissée par les mêmes procédés, sont mis sans être humectés dans un vase d'argile poreux de 750 cent. cubes de capacité. Celui-ci est fermé par un couvercle d'étain et enterré à un mètre de profondeur, le 27 avril, dans un jardin sur la côte du Rabbenthal près Berne. Environ sept mois après, c'est-à-dire le 3 novembre, il est déterré et le contenu mis dans l'éther.

Cette seconde recherche et les suivantes ont été faites d'une manière analogue à la première.

Comme produit de la distillation de l'éther, nous avons trouvé une matière semblable à celle de la première recherche; la réaction en est acide et, traitée par la baryte, elle nous donne cette même substance sirupeuse, collante et à odeur analogue, mais nous n'avons plus retrouvé les mêmes cristaux. Sous le microscope on voit des corps amorphes et des gouttelettes de graisse. Chauffée, cette substance répand une odeur de graisse brûlée et d'acroline; elle fait une tache grasse sur le papier. L'acide chlorhydrique ne produit rien. Le poids du résidu tiré de l'éther est de 0.224 gramme.

La distillation alcoolique fournit une matière amorphe et de la leucine, solubles dans l'eau et dans l'alcool. Le poids du résidu est de 2.810 grammes.

La masse solide primitive, après avoir été séchée jusqu'à poids constant, est une poudre noire composée d'albumine et de quelques sels inorganiques; elle laisse beaucoup de cendres à réaction alcaline.

Son poids est de 7.114 grammes.

*Troisième recherche.* Le 26 avril, 80 grammes d'albumine contenant 16.12 p. %~0~ d'eau, ce qui représente 67.1 grammes d'albumine séchée à 110° furent extraits de 27 livres de viande de bœuf. Celle-ci avait été finement hachée, traitée par l'alcool, et l'albumine avait été traitée cinq fois par l'éther. Ces 80 grammes d'albumine furent mis dans un vase en argile poreuse de 750 cent. cubes de capacité. Après avoir été humecté, le vase fut fermé avec un couvercle en étain et enterré le 27 avril dans le même jardin jusqu'au 3 novembre.

Le produit de la distillation de l'éther est encore analogue aux précédents. Il ne cristallise pas, ne change pas par l'acide chlorhydrique; chauffé, il répand une odeur de graisse, il est peu soluble dans l'éther, insoluble dans l'alcool.

Le résidu de la distillation alcoolique est rouge-brun, et présente au microscope des masses amorphes et des cristaux de leucine. Son poids est de 0.397 grammes.

La partie solide primitive est noirâtre. Traitée par l'eau bouillante et séchée, elle donne une poudre noire pesant 3.579 grammes laissant beaucoup de cendres à réaction alcaline.

*Quatrième recherche.* Le 27 avril, 89 grammes d'albumine contenant 9.96 p. % d'eau, ce qui représente 80.12 grammes d'albumine séchée à 110°, provenant également de viande et ayant subi les mêmes opérations, sont renfermés dans un vase d'argile et enterrés dans le même jardin jusqu'au 3 novembre.

La distillation de l'éther fournit une substance ne pesant que 0.678 gramme, et qui, traitée par la baryte, laisse un résidu qui ne cristallise pas, mais qui, par l'acide chlorhydrique, devient rouge en étant chauffée et répand une odeur de naphtylamine. Ce résidu ne change pas par l'acide nitrique, il est soluble dans l'éther et répand une odeur de graisse, si on le brûle.

Le produit de la distillation alcoolique est brun, présente au microscope quelques cristaux de leucine et quelques cristaux en aiguilles.

La masse solide est une poudre brune ayant les mêmes propriétés que celles des précédentes épreuves et pesant 7.534 grammes.

Voici le tableau des valeurs en poids des différents résidus obtenus et des quantités d'albumine employées dans ces quatre recherches:

| Quantité d'albumine employée | Poids du résidu de la distillation de l'éther | Poids du résidu de la distillation de l'alcool | Poids du résidu obtenu par l'eau bouillante |
|---|---|---|---|
| I. 92 gr. contenant 25.58 % d'eau représentant 68.5 gr. à 110° | 0.926 gr. | 5.590 gr. | 6.283 gr. |
| II. 142 gr. contenant 46.1 % d'eau représentant 66.8 gr. à 110° | 0.224 " | 2.810 " | 7.114 " |
| III. 80 gr. contenant 16 % d'eau représentant 67.1 gr. à 110° | — | 0.397 " | 3.597 " |
| IV. 89 gr. contenant 9.96 % d'eau représentant 80.12 gr. à 110° | 0.678 " | 2.551 " | 7.534 " |

Après avoir fait ces recherches sur la décomposition de l'albumine dans l'eau courante et dans la terre, nous en fîmes encore trois sur la décomposition de l'albumine dans l'eau stagnante.

Nous avons opéré sur trois quantités d'albumine préalablement dégraissée ayant séjourné sept mois dans l'eau stagnante.

Nous obtenons les mêmes résultats que dans les épreuves précédentes, mais le corps nouveau, caractéristique par son odeur, était en trop petite quantité pour cristalliser.

En résumé, par ces recherches nous avons trouvé à peu près les mêmes produits de décomposition que Bopp; c'est-à-dire la leucine, mais pas trace de tyrosine, une substance sirupeuse et ce corps nouveau; puis quelques traces de matière grasse, provenant probablement de la quantité de vers qui couvraient ces substances en putréfaction. Le manque de tyrosine vient probablement de ce que l'albumine avait été beaucoup plus longtemps en décomposition que les substances employées par Bopp.

Nous avons voulu nous assurer encore de quelle nature pouvait être le corps

que Bopp trouva, mais en trop petite quantité pour qu'il pût l'analyser. Cette substance paraissait avoir beaucoup de rapport avec celle que nous avons décrite.

Dans ce but, nous avons exposé à l'air, dans le laboratoire même de l'Institut pathologique, 200 grammes d'albumine dans 2000 grammes d'eau séparés dans deux vases. Peu de temps après la décomposition commença, le liquide se remplit de bactéries et les parties solides se désorganisèrent.

Au bout de 4 semaines nous ajoutons une certaine quantité d'acide acétique dans un des vases, nous faisons distiller, au liquide distillé nous ajoutons de la chaux jusqu'à réaction alcaline, et ensuite même volume d'éther. Celui-ci est décanté, distillé, le résidu se colore en rouge par l'acide nitrique, et il se forme un précipité rouge de petits cristaux en aiguilles qui, d'après les recherches de M. le professeur Nencki[1]), sont le nitrate de nitrosoindol. $C_{16}H_{18}(NO)N_2NO_3H$.

Cette réaction par l'acide nitrique est caractéristique pour l'indol. Mais la quantité que nous avons trouvée de ce corps était peu considérable.

La même opération est faite 3 semaines plus tard sur le contenu du second vase. Nous trouvons la même substance que celle découverte par nous dans notre première recherche, c'est-à-dire comme produit de la décomposition de l'albumine dans l'eau courante, et nous constatons que c'est le même corps que celui trouvé par Bopp; en outre, nous trouvons encore quelques traces d'indol. Le liquide resté après avoir décanté l'éther, est évaporé et traité par l'acide chlorhydrique, il s'en sépare une faible trace de substance grasse.

Les résultats obtenus par nos différentes recherches nous montrent que l'albumine ne s'est pas transformée en graisse. Bopp arrive aux mêmes conclusions.

On a trouvé quelquefois, il est vrai, des acides gras comme produits de la décomposition des substances albuminoïdes, mais pas des acides gras supérieurs constituant la graisse proprement dite. Les seules recherches qui prouveraient la transformation de l'albumine en graisse sont celles de Blondeau sur le fromage de Roquefort. Mais Brassier ne trouve-t-il pas des résultats contraires? Il serait possible cependant que dans certaines circonstances et sous certaines influences l'albumine se change en graisse. Mais c'est une question qui nécessite de nouveaux travaux.

Nous concluons donc de nos recherches que la transformation de l'albumine en graisse n'est pas probable et que la théorie d'Orfila semble être la vraie, c'est-à-dire que le gras de cadavre ne se forme que là où il existe déjà de la graisse et une matière azotée.

[1]) Nencki, Ber. 8, 722. — Dieser Band S. 115.

# Untersuchungen über die Zersetzungsproducte des Melams und verwandter Substanzen

von

**J. H. Jäger.**

In.-Diss. Bern. — Ber. **9**, 1554.

In seinen Untersuchungen „Ueber einige Stickstoffverbindungen" (Ann. d. Ch. u. Ph. 10, Heft 1) machte uns Liebig zuerst mit einer neuen Verbindung bekannt, die man bei der trockenen Destillation des Schwefelammoniums erhält. Unter Entweichen von Ammoniak und Schwefelkohlenstoff zersetzt sich das Schwefelammonium und es bleibt ein weissgrauer Rückstand. Liebig beschreibt diesen Körper als ein im reinen Zustande weisses, körniges Pulver von indifferentem Verhalten, unlöslich in Wasser, Alkohol und Aether, löslich in Alkalien und Säuren, dadurch aber bei längerer Einwirkung zersetzt werdend, verbinde sich weder mit Alkohol noch mit Säuren. Bei starker Hitze zersetze es sich unter Ammoniakentwickelung in ein geringes krystallinisches Sublimat — das nicht weiter untersucht wurde — und einen gelben Rückstand, welcher beim Glühen in Cyangas und Stickgas zerfalle, nur aus Kohlenstoff und Stickstoff bestehe, und Mellon sei. — Die Analysen des Zersetzungsproductes aus Rhodanammonium führten Liebig zu der Formel $C_6N_{11}H_9$ und er gab ihm den Namen Melam.

Durch Behandlung des Melams mit Alkalien und Säuren stellte nun Liebig eine Reihe neuer Substanzen dar. So erhielt er durch Kochen mit Kalilauge, bis Alles gelöst ist, zwei Verbindungen, eine durch Verdampfen der alkalischen Lösung, bis zur beginnenden Krystallisation, die andere durch Fällen des von ersteren getrennten Filtrats mit Essigsäure.

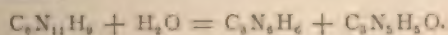
Das erste Product, eine in schönen farblosen Rhombenoktaedern krystallisirende Verbindung, mit basischen Eigenschaften, gut krystallisirende Salze gebend, löslich in heissem Wasser, nannte er Melamin, zeigte, dass es ein polymeres Cyanamid sei und ihm die Formel $C_3N_6H_6$ zukomme.

Das andere, durch Essigsäure fällbare Product stellt, auf diese Weise erhalten, einen voluminösen, weissen, nicht krystallinischen Niederschlag dar, ebenfalls mit basischen Eigenschaften, krystallisirende Salze gebend, dagegen unlöslich in Wasser, Alkohol und Aether. Krystallinisch zu erhalten durch Fällen seiner Lösungen mit Ammoniak.

Er gab ihm den Namen Ammelin und die Formel $C_3N_5H_5O$.

Beide Substanzen gehen dann durch längere Behandlung mit Alkalien und Säuren in Cyanursäure über.

Das Melamin und Ammelin dachte sich Liebig aus dem Melam entstanden durch Zutritt von einem Molekül Wasser zu einem Molekül Melam, wie es folgende Gleichung veranschaulicht:

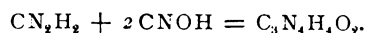
$$C_6N_{11}H_9 + H_2O = C_3N_6H_6 + C_3N_5H_5O.$$

Weiter erhielt Liebig durch Lösen von Melam in concentrirter Schwefelsäure oder Salpetersäure einen Körper, dem er die Zusammensetzung $C_6N_9H_9O_3$ gab und Ammelid nannte. Seine Eigenschaften beschreibt er als weiss und pulverförmig, nicht mehr basisch, sich zwar leicht lösend in Säuren, aber keine beständigen Salze bildend. — Er erhielt dieselbe Verbindung auch durch Erhitzen des salpetersauren Ammelins bis zu dem Punkte, wo die weiche breiartige Masse wieder fest wird, oder auch aus Melamin und Ammelin durch Behandlung mit Säuren.

Später wiederholte Knapp (Ann. d. Ch. u. Ph. **21**, Heft 3) diese Untersuchungen von Liebig. Er beschreibt besonders die Einwirkung der concentrirten Salpetersäure auf das Melam und bestätigte die Bildung des Ammelids. Er untersuchte den Körper von Neuem und kam zu derselben Zusammensetzung, die ihm Liebig gegeben hatte.

Henneberg (Ann. d. Ch. u. Ph. **73**, Heft 2) fand das Ammelid als Zersetzungsproduct des Mellonkaliums neben der Cyamelursäure. Seine Analysen stimmen ebenfalls auf die Formel $C_6N_9H_9O_3$.

Entgegengesetzt den Angaben der angeführten Chemiker über die genannten Verbindungen sind die von Gerhardt & Laurent (Ann. d. Ch. et de Phys. [3] 19). Hauptsächlich Gerhardt kam zu anderen Ansichten über diese Körper. Er betrachtet (Lehrbuch d. org. Chem. v. Gerh., **1**, 520) das Melam und Melamin von gleicher Zusammensetzung und dachte, dass das erstere in das Melamin durch Andersgruppirung der Moleküle übergehe. Er gab beiden die Zusammensetzung eines polymeren Cyanamids und glaubte, dass das Liebig'sche Melam nur ein Gemenge von reinem Melam und Mellon sei. Die letztere Vermuthung hatte schon vor ihm Voelkel in seiner Arbeit (Untersuchungen über die Zersetzungsproducte der Schwefelblausäure und Ueberschwefelblausäure) (Poggendorff's Ann. d. Ch. u. Phys. **61**, 373) ausgesprochen. Es war ihm gelungen, das Melam, oder wie er es nannte, das Polien rein zu erhalten und bei der Analyse Zahlen, die auf Cyanamid stimmen, zu bekommen.

Weiter behauptet Gerhardt, dass sich durch Behandlung von Melam mit concentrirter Schwefelsäure nicht ein Körper von der Zusammensetzung des Liebig'schen Ammelids bilde, sondern eine Verbindung, die identisch sei mit der von Liebig und Wöhler als Zersetzungsproduct der trockenen Destillation des Harnstoffes (Ann. d. Ch. u. Ph. **54**) erhaltenen, dessen Formel beide Chemiker als $C_3N_4H_4O_2$ angeben und die dann später von Henneberg (Ann. d. Ch. u. Ph. **73**) Melanurensäure genannt wurde. Dasselbe Product entstehe auch aus salpetersaurem Ammelin und Melam mit concentrirter Salpetersäure behandelt nach der Knapp'schen Vorschrift. — Gerhardt stellte sich nämlich vor, das Ammelid sei Cyanamid mit zwei Molekülen Cyansäure:

$$CN_2H_2 + 2\,CNOH = C_3N_4H_4O_2.$$

Damit stimmte natürlich die von Liebig gegebene Formel nicht überein, in Folge dessen Gerhardt die Versuche wiederholte und zu den angeführten Resultaten kam. — Liebig behauptete jedoch dem entgegen die Richtigkeit seiner Angaben.

Später hat sich dann meines Wissens Niemand wieder mit diesen Untersuchungen beschäftigt, bis vor ungefähr zwei Jahren Volhard am Schlusse seiner Arbeit „Ueber einige Derivate des Sulfoharnstoffes" (Journ. f. pr. Ch. [2] 9, 29) berichtet, dass die Zusammensetzung des Melams der eines Cyanamides sehr nahe komme, dass es zum grössten Theil in Melamin übergehe durch Erhitzen im zugeschmolzenen Rohre mit Ammoniakwasser auf 150° C. und dass es ihm gelungen sei, ein Verfahren zu finden, welches constant ein gleichartiges Product von der Zusammensetzung des Gerhardt'schen Ammelids liefere. Dieses Product soll sich nach ihm mit Säuren und Basen zu gut krystallisirenden Salzen verbinden.

Im vorigen Jahre veröffentlichte Gabriel (Ber. d. chem. Ges. z. Berl. 8, 1166) eine Notiz über diese Verbindungen. Dieselbe bestätigte die Angaben von Gerhardt, nämlich dass bei der Behandlung des Melams mit Schwefelsäure ein Körper resultirte von der Zusammensetzung $C_3N_4H_4O_2$. Eine Substanz von der Zusammensetzung des Liebig'schen Ammelids zu erhalten, war ihm nicht gelungen, weder nach dem Liebig'schen noch dem Knapp'schen Verfahren.

Obgleich nun, wie angeführt, die neueren Untersuchungen die Angaben von Gerhardt bestätigen, ja fast gewiss stellen, war doch meines Erachtens nach noch zu untersuchen, ob unter allen Bedingungen die Schwefelsäure das Melam in einen Körper von der Zusammensetzung $C_3N_4H_4O_2$ überführe. Keiner der Chemiker, die darüber gearbeitet haben, giebt die näheren Bedingungen an, unter denen sie die Einwirkung der Schwefelsäure auf das Melam haben vor sich gehen lassen. Und es ist doch wohl leicht denkbar, dass es nicht gleichgültig ist, ob man die Schwefelsäure bei gelinder Wärme oder gewöhnlicher Temperatur mit Melam digerirt, oder ob man auf höhere Temperatur erhitzt. — Auch dürfte das Mengenverhältniss der Schwefelsäure zu dem Melam nicht ganz ohne Einfluss sein.

Nimmt man z. B. mit Gerhardt an, dass das Melam ein polymeres Cyanamid sei von der Molekulargrösse $C_6N_{12}H_{12}$, so ist leicht zu denken, dass die Schwefelsäure Anfangs bei gewöhnlicher Temperatur oder nur schwachem Erwärmen in der Weise einwirkt, dass Austausch von Amid gegen Hydroxyl stattfindet und vielleicht Verbindungen entstehen wie diese: $C_6N_{10}H_{10}O_2$ oder $C_6N_9H_9O_3$. Möglich auch, dass sich nur letztere Verbindung bildete, die dann Liebig'sches Ammelid wäre. Bei weiterer Einwirkung der Schwefelsäure oder bei höherer Temperatur konnte das so gebildete Ammelid leicht unter weiterem Austausch von Amid und Hydroxyl sich in zwei Moleküle Gerhardt'schen Ammelids spalten.

Waren diese Vermuthungen richtig, so musste es unter geeigneten Verhältnissen immerhin gelingen, aus dem Melam ein Liebig'sches Ammelid zu erhalten. — Ich habe deswegen diese Untersuchungen von Neuem unternommen und besonders die Einwirkung der Schwefelsäure auf das Melam unter verschiedenen Bedingungen festzustellen gesucht.

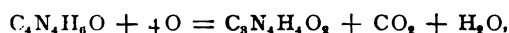
Andererseits hoffte ich auf eine andere Weise zu dem Gerhardt'schen Ammelid zu kommen. — Vor Kurzem beschrieb Nencki (Ber. 7 u. 9. — Dieser Band S. 79, 84, 154, 158) eine Reihe neuer Verbindungen, die Guanamine, die man durch trockene Destillation der Guanidinsalze erhält. Am meisten ist das aus essigsaurem Guanidin dargestellte Acetoguanamin untersucht worden. Dasselbe geht

durch Kochen mit Kalilauge unter Austausch von Amid gegen Hydroxyl in das Guanid, einen Körper von der Zusammensetzung $C_4N_4H_6O$, über. Durch Behandlung des Guanamins mit concentrirter Schwefelsäure bei 150° C. findet obiger Austausch zweimal statt und man erhält das Guanamid $C_4N_3H_5O_2$. Wie man sieht, verhält sich das Guanamin auffallend analog dem Melamin. Letzteres, mit Kalilauge gekocht, giebt Ammelin durch Austausch von einem Amid gegen Hydroxyl, mit Schwefelsäure behandelt findet dieser Austausch auch hier zweimal statt und man erhält Ammelid.

Das Guanamid $C_4N_3H_5O_2$ zerfällt nun bei der Behandlung mit Salpetersäure unter Aufnahme von Sauerstoff geradeauf in Kohlensäure, Wasser und Cyanursäure:

$$C_4N_3H_5O_2 + 4O = C_3N_3H_3O_3 + CO_2 + H_2O.$$

Es lag nun nahe, anzunehmen, dass das Guanid, das erste Oxydationsproduct aus dem Guanamin, sich gegen Salpetersäure analog verhalten würde. Es müsste zerfallen nach der Gleichung:

$$C_4N_4H_6O + 4O = C_3N_4H_4O_2 + CO_2 + H_2O,$$

das resultirende Product $C_3N_4H_4O_2$ hätte aber die Zusammensetzung des Gerhardt'schen Ammelids. Ich habe nun auf Veranlassung des Herrn Prof. Nencki diese Untersuchungen unternommen, deren Ergebnisse in dem Folgenden mitgetheilt werden sollen.

Was zunächst die Bildung des Gerhardt'schen Ammelids aus dem Guanid betrifft, so verfuhr ich bei dem Versuch genau nach dem Verfahren, das Nencki für die Darstellung der Cyanursäure aus dem Guanamid angiebt. Ein Theil Guanid wurde gelöst in sechs Theilen Salpetersäure von 1.3 spec. Gew. Bei gelindem Erwärmen tritt heftige Reaction ein und es entweicht massenhaft Untersalpetersäure und salpetrige Säure. Hat man zu wenig Salpetersäure genommen, so ist die Reaction so heftig, dass gewöhnlich vollständige Zersetzung und Verkohlung eintritt. Beim Erkalten scheidet sich, durch Wasserzusatz vermehrt, ein gelbes Product ab. Es wurde abfiltrirt und mit Wasser alle Salpetersäure ausgewaschen. Das so erhaltene Product ist amorph und körnig, in kaltem Wasser vollständig unlöslich, in heissem geht ein geringer Theil in Lösung, der sich dann aus dem Filtrat in schwach gelblich gefärbten Flocken ausscheidet, die Menge desselben ist aber so gering, dass eine Untersuchung kaum möglich war. — Die salpetersaure Lösung giebt mit Ammoniak eine schmutziggraue Fällung, welche im überschüssigen Ammoniak zum Theil löslich ist. Aus dieser Lösung entsteht durch Essigsäure wieder Fällung. Man kann also aus der Lauge noch zwei Producte isoliren, aber beide treten nur in sehr minimalen Mengen auf.

Das Hauptproduct bildet der gelbe, in Wasser unlösliche Körper. Ich habe denselben, und zwar in verschiedenen Formen, vielfachen Analysen unterworfen, bin aber zu keinen guten Resultaten gekommen.

Das Product direct analysirt, so wie man es durch Behandlung des Guanids mit Salpetersäure erhält, nachdem alle Säure durch Waschen mit Wasser entfernt worden war und der in heissem Wasser lösliche Körper durch Kochen mit Wasser beseitigt, gab folgende Zahlen:

0.1483 g der bis zum constanten Gewicht getrockneten Substanz mit Kupferoxyd verbrannt, lieferten 0.1578 g $CO_2$ und 0.0480 g $H_2O$, oder 29.01 Proc. C und 3.59 Proc. H.

0.1284 g desselben Präparates, nach der Methode von Dumas verbrannt, lieferten 49 ccm N-Gas bei 9.5° C. und 710 mm B., oder 41.88 Proc. N.

0.1641 g eines Productes, herrührend von einer anderen Darstellung, lieferten 53.5 ccm N-Gas bei 13° C. und 714 mm B., oder 39.09 Proc. N.

Die Analysen des Natronsalzes, erhalten durch Lösen des gelben Körpers in verdünnter Natronlauge und Verdunstenlassen des Filtrates über Schwefelsäure, führten zu nachstehenden Resultaten:

0.1610 g des trockenen Salzes lieferten, nach der Methode von Dumas verbrannt, 37 ccm N-Gas bei 10.5° C. und 712 mm B., oder 24.92 Proc. N.

0.1723 g desselben Präparates im Porcellantiegel mit Schwefelsäure geglüht lieferten 0.1106 g $Na_2SO_4$ oder 20.77 Proc. Na.

0.1636 g eines anderen Präparates, ebenso behandelt, lieferten 0.1060 g $Na_2SO_4$, oder 20.96 Proc. Na.

Das Natronsalz stellt eine undeutlich krystallisirende, schwach gelblich gefärbte Verbindung dar. Es war das einzige Salz, das sich durch Krystallisationsfähigkeit und etwas schwerere Löslichkeit auszeichnete. Ein sonstiges Salz zu erhalten, ist mir nicht gelungen.

In der Hoffnung, aus dem Natronsalz ein reines Product zu erhalten, fällte ich den von den Analysen gebliebenen Rest desselben mit verdünnter Salzsäure und wusch die Fällung so lange mit Wasser aus, bis sich keine Säure mehr nachweisen liess. Nach dem Trocknen unterwarf ich das Product der Analyse.

0.2760 g der trockenen Substanz lieferten 0.3011 g $CO_2$ und 0.0705 g $H_2O$, oder 29.75 Proc. C und 2.83 Proc. H.

0.1360 g desselben Präparates lieferten, nach der Methode von Dumas verbrannt, 42.5 ccm N-Gas bei 8.5° C. und 708 mm B., oder 34.28 Proc. N.

Zur weiteren Reinigung wurde der hier gebliebene Rest in Ammoniak gelöst und von Neuem mit Salzsäure ausgefällt und sehr sorgfältig gewaschen. Die Analysen davon führten zu nachstehenden Zahlen:

0.2291 g der trockenen Substanz lieferten bei der Verbrennung 0.2486 g $CO_2$ und 0.0640 g $H_2O$, oder 29.59 Proc. C und 3.10 Proc. H.

0.1483 g desselben Präparates, nach der Methode von Dumas verbrannt, lieferten 48 ccm N-Gas bei 13° C. und 709 mm B. oder 35.57 Proc. N.

Wie man sieht, stimmen die Analysen nur wenig, zum Theil auch gar nicht überein, und ist es besonders der Stickstoff, der ziemlich bedeutende Abweichungen zeigt. — Auf das Natronsalz würde leidlich eine Formel $C_4N_4H_4Na_2O_4$ stimmen, welche Formel verlangt:

| Berechnet: | | | Gefunden: | |
|---|---|---|---|---|
| | | | I. | II. |
| $C_4$ | = 48 | 20.16 Proc. | — | — |
| $H_4$ | = 4 | 1.68 „ | — | — |
| $Na_2$ | = 46 | 19.32 „ | 20.77 | 20.96 |
| $N_4$ | = 56 | 23.52 „ | 24.92 | — |
| $O_4$ | = 64 | — „ | — | — |
| | 218 | | | |

Die Formel der davon abgeleiteten freien Substanz $C_4H_6N_4O_4$ verlangt dann:

| Berechnet: | | Gefunden: I. | II. | |
|---|---|---|---|---|
| $C_4$ = 48 | 27.59 Proc. | 29.75 Proc. | 29.59 Proc. | C |
| $H_6$ = 6 | 3.44 „ | 2.83 „ | 3.10 „ | H |
| $N_4$ = 56 | 32.18 „ | 34.28 „ | 35.57 „ | N |
| $O_4$ = 64 | — | — | — | |
| 174 | | | | |

Die gefundenen Zahlen stimmen, wie man sieht, mit den berechneten nicht überein, ebenso liess sich keine andere Formel daraus berechnen.

Eine Verbindung mit der Zusammensetzung des Gerhardt'schen Ammelids bildet sich also hierbei nicht, oder wenn sie sich bildet, dann doch in solchen minimalen Mengen als Nebenproduct, dass sie sich der Untersuchung gewissermaassen entzieht und daher auch gar kein Interesse hätte. Das Guanid verhält sich in dieser Reaction nicht analog dem Guanamid, es erleidet wahrscheinlich durch Salpetersäure eine tiefere Zersetzung.

Für die anderen Untersuchungen, betreffend die Bildung des Ammelids aus Melam, stellte ich mir zunächst eine genügende Menge Melam dar, und zwar nach der Vorschrift von Claus (Ann. d. Ch. u. Ph. **179**, Heft 1). Das erhaltene Melam wurde zur Reinigung nach mehrmaligem Auswaschen mit Wasser mit kochendem ausgezogen. Man kann noch so oft mit Wasser kochen, so geht doch jedesmal ein Theil des Melams in Lösung, welcher sich dann aus dem Filtrat in weissen amorphen Flocken ausscheidet. Demnach scheint Voelkel nicht ganz unrecht zu haben, wenn er behauptet, das Melam sei löslich in Wasser. — Das gereinigte Melam unterwarf ich nun der Einwirkung der Schwefelsäure bei verschiedenen Temperaturen.

### I. Einwirkung der Schwefelsäure auf das Melam bei 100° C.

Auf einen Theil fein zerriebenes trockenes Melam wurden sechs Theile concentrirte reine Schwefelsäure genommen und beides in ein Kölbchen gebracht, in welchem sich ein Thermometer befand, um die Temperatur beobachten zu können. Es findet gleich Anfangs heftige Reaction statt und das Thermometer steigt schnell bis 120° C. Das Kölbchen wurde, nachdem die Temperatur bis 100° C. gefallen war, auf einem Wasserbade ungefähr eine halbe Stunde lang erwärmt. Dabei zeigt das Thermometer nur immer 100° C., alles Melam geht in Lösung und nur die immer vorhandenen Schwefeltheilchen bleiben ungelöst. Um von letzteren zu trennen, filtrirte ich die Lösung durch Asbest. Das erkaltete Filtrat wurde nach der Vorschrift von Liebig mit Alkohol gefällt. Der entstandene Niederschlag ist schmutzigweiss, sehr voluminös und amorph. Er wurde mit Alkohol und dann kaltem Wasser vielfach gewaschen. Da es aber auf die Weise nie gelang, alle Schwefelsäure zu entfernen, kochte man mit heissem Wasser aus und filtrirte heiss. — Ich hatte nach den Angaben von Liebig erwartet, es würde sich in Wasser nichts lösen, sah aber zu meinem Erstaunen, dass das Filtrat zu prachtvollen Krystallnadeln erstarrte. Durch wiederholtes Auskochen mit Wasser liessen sich neue Mengen dieses krystallinischen

Productes ausziehen. Waren aber schon die ersten Auszüge mit ganz geringen Mengen amorpher Flocken verunreinigt, so nahmen dieselben bei den späteren Auszügen immer mehr zu, bis sich schliesslich nur noch minimale Mengen davon aus dem Filtrat ausschieden. — So lösten sich nach und nach mehr als zwei Drittel des anfänglich erhaltenen Niederschlages in Wasser. — Ich hatte also zwei Producte erhalten, ein in Wasser lösliches und ein unlösliches. Ersteres schön krystallisirend, letzteres ein amorphes Pulver darstellend. Ich unternahm zuerst die Untersuchung des krystallinischen Productes. Dasselbe ist sehr schwer von den ihm fest anhängenden Flocken zu befreien, was nur durch vielfaches Umkrystallisiren gelingt. So erhielt ich endlich ein unter dem Mikroskop völlig homogen erscheinendes Product.

Die amorphe Verunreinigung habe ich nicht weiter untersucht, da ihre Menge zu gering ist. — Die Krystalle bilden Nadeln und Säulen, und zwar, soviel ich bestimmen konnte, des monoklinen Systems, sind farblos mit schwachem Glanz und von ziemlicher Schwere. Im kalten Wasser fast vollständig unlöslich, ziemlich leicht löslich dagegen im heissen Wasser. Die wässerigen Lösungen reagiren immer schwach sauer. Dies und dass die Krystalle sehr starke Reaction auf Schwefelsäure zeigten, liessen mich vermuthen, ein schwefelsaures Salz zu haben, was sich auch bestätigen sollte.

Versetzt man eine Lösung der Krystalle, oder die Krystalle selbst mit einer Lösung eines kohlensauren Alkalis, so entweicht Kohlensäure und die Krystalle lösen sich im letzteren Falle. Verdampft man dann etwas die erhaltene Lösung, so erhält man daraus neben dem schwefelsauren Kali Krystalle, die sich schon durch die äusseren Eigenschaften so auffällig für Melamin charakterisirten, dass kein Zweifel vorhanden war, dass das schwefelsaure Salz schwefelsaures Melamin sei. Dies sollten denn die Analysen vollkommen bestätigen.

Die Analysen des durch mehrmaliges Umkrystallisiren gereinigten Salzes führten zu folgenden Resultaten:

0.2291 g der trockenen Substanz, mit chromsaurem Blei verbrannt, lieferten 0.1550 g $CO_2$ und 0.1006 g $H_2O$, oder 18.45 Proc. C und 4.87 Proc. H.

0.2655 g desselben Präparates lieferten 0.1848 g $CO_2$ und 0.1126 g $H_2O$, oder 18.98 Proc. C und 4.71 Proc. H.

0.1526 g desselben Präparates, nach der Methode von Dumas verbrannt, gaben 60 ccm N-Gas bei 10° C. und 715 mm B., oder 44.17 Proc. N.

0.1662 g ebenso behandelt gaben 64.5 ccm N-Gas bei 7.5° C. und 707 mm B., oder 43.57 Proc. N.

Die Formel $(C_3N_6H_6)_2H_2SO_4 + 2H_2O$ verlangt:

| Berechnet: | | | Gefunden: I. | II. | |
|---|---|---|---|---|---|
| $C_6$ | = 72 | 18.64 Proc. | 18.45 Proc. | 18.98 Proc. | C |
| $H_{18}$ | = 18 | 4.66 „ | 4.87 „ | 4.71 „ | H |
| $N_{12}$ | = 168 | 43.52 „ | 44.17 „ | 43.57 „ | N |
| S | = 32 | 8.29 „ | — | — | |
| $O_6$ | = 96 | — | — | — | |
| | 386 | | | | |

0.2570 g desselben Präparates, mit chromsaurem Blei verbrannt, lieferten 0.2162 g $CO_2$ und 0.0848 g $H_2O$, oder 24.87 Proc. C und 3.97 Proc. H.

0.1350 g eines anderen Präparates, nach der Methode von Dumas verbrannt, lieferten 69 ccm N-gas bei 17° C. und 714 mm B. = 55.55 Proc. N.

Aus den Stickstoffbestimmungen geht hervor, dass der Rückstand ganz verschieden zusammengesetzt ist, dass er eben ein Gemenge verschiedener Producte ist.

Ich glaubte daher zuerst, dieser Rückstand bestehe noch zum grössten Theil aus unverändertem Melam, unterwarf ihn deswegen von Neuem der Einwirkung der Schwefelsäure unter denselben Bedingungen, erhielt aber daraus keine Spur schwefelsauren Melamins mehr.

In der Hoffnung, wenigstens ein einheitliches Product aus dem Rückstande isoliren zu können, versuchte ich ihn in Salpetersäure zu lösen. Liebig giebt von seinem Ammelid an, dass es leicht löslich in Salpetersäure sei, das gebildete Salz aber schon durch Wasser zersetzt werde. Mein Product löste sich nur nach längerem Kochen in Salpetersäure und war dann zum grössten Theil in Cyanursäure zersetzt. Kocht man nur in Salpetersäure auf und filtrirt dann, so bleibt allerdings der grösste Theil ungelöst, aus dem Filtrat erhält man aber ein Salz, das in undeutlich krystallinischen Kugeln auskrystallisirt. Dasselbe wird durch Wasser zersetzt und ihr die Salpetersäure genommen. Näher habe ich es noch nicht untersucht, nur so viel festgestellt, dass es nicht die Zusammensetzung eines salpetersauren Liebig'schen Ammelids hat, allerdings ebenso wenig des Gerhardt'schen Ammelids.

0.1064 g des salpetersauren Salzes, nach der Methode von Dumas verbrannt, lieferten mir 45.5 ccm N-Gas bei 18° C. und 704 mm B., oder 45.61 Proc. N.

Spätere Untersuchungen müssen zeigen, ob dieses Salz eine constante Zusammensetzung hat; so viel steht nur fest, dass sich aus Melam, auf diese Weise mit concentrirter Schwefelsäure behandelt, weder Liebig'sches noch Gerhardt'sches Ammelid bildet, sondern in der Hauptsache Melamin.

## II. Einwirkung der Schwefelsäure auf das Melam bei höherer Temperatur.

Es war nun noch zu versuchen, in welcher Weise die Schwefelsäure bei höherer Temperatur auf das Melam einwirkt.

Ich nahm wieder Melam und Schwefelsäure in demselben Verhältniss wie beim ersten Versuch und erhitzte, nachdem die erste Reaction vorüber war, auf einem Sandbade. Sowie die Temperatur 150° C. erreicht hat, tritt eine neue heftige Reaction ein, die Masse kommt stark ins Schäumen und das Thermometer steigt schnell bis 210° C. Das Kölbchen wurde vom Sandbade genommen und man liess bis 150° C. erkalten; bei dieser Temperatur digerirte man dann ungefähr eine halbe Stunde lang. Die erkaltete Masse wurde wie oben mit Weingeist gefällt und mit kaltem Wasser ausgewaschen. Beim Auskochen mit heissem Wasser lösen sich von dem Niederschlag nur geringe amorphe Flocken, schwefelsaures Melamin erhält man nicht aus dem Filtrat.

Der ungelöste Rückstand, nach mehrmaligem Auskochen mit Wasser gereinigt,

wurde in Salpetersäure gelöst, nachdem ich bei einer Probe gesehen hatte, dass man auf diese Weise ein gut krystallisirendes Salz erhält. — Er löst sich darin bis auf geringe Verunreinigungen vollständig und das Filtrat erstarrt beim Erkalten zu einem Krystallbrei. Die Krystalle wurden durch schwedisches Papier filtrirt, gar nicht mit Wasser gewaschen, weil sie sich dadurch zum Theil zersetzen, sondern nur gut zwischen Fliesspapier ausgepresst. — Das Salz stellt glänzende Krystallschuppen dar, die unter dem Mikroskop als monokline Säulen erscheinen. Schon durch kaltes, vollständig aber durch heisses Wasser wird es zersetzt und man erhält ein weisses körniges Pulver. Dieses ist dann weder in Wasser, noch in Alkohol oder Aether löslich, auch nicht in Essigsäure, in kaltem Ammoniak ist es ebenfalls fast unlöslich, leichter aber in heissem; in den fixen Alkalien und Mineralsäuren ist es leicht löslich.

Nach allen diesen Eigenschaften war mir klar, dass sich hier Gerhardt'sches Ammelid gebildet hatte. Dies sollten auch die Analysen bestätigen. Dazu wurde das salpetersaure Salz verwandt, nachdem es mehrere Male aus Salpetersäure umkrystallisirt worden war.

Folgende Zahlen wurden gefunden:

0.3564 g des trockenen Salzes, mit Kupferoxyd verbrannt, lieferten 0.2478 g $CO_2$ und 0.0890 g $H_2O$, oder 18.96 Proc. C und 2.77 Proc. H.

0.1997 g derselben Substanz, nach der Methode von Dumas verbrannt, lieferten 65 ccm N-gas bei 10° C. und 712 mm B., oder 36.42 Proc. N.

Die Formel $C_3N_4H_4O_2 . HNO_3$ verlangt:

| | Berechnet: | Gefunden: |
|---|---|---|
| $C_3 = 36$ | 18.84 Proc. | 18.96 Proc. C |
| $H_5 = 5$ | 2.61 „ | 2.77 „ H |
| $N_5 = 70$ | 36.64 „ | 36.42 „ N |
| $O_5 = 80$ | 41.88 „ | — |
| 191 | | |

Wie man sieht, stimmen die Zahlen sehr gut auf das salpetersaure Gerhardt'sche Ammelid.

Ich erwähnte schon oben, dass sich das aus dem salpetersauren Salz durch Zersetzen mit Wasser erhaltene Pulver leicht in heissem Ammoniak löse. Ebenso verhält sich das salpetersaure Salz selbst. Die Lösungen beider erstarren beim Erkalten zu einem Krystallbrei, bestehend aus prachtvollen farblosen Krystallnadeln. Diese Krystalle zersetzen sich sofort durch Wasser, ja selbst an der Luft, indem Ammoniak fortgeht.

Die Analyse der Krystalle, nachdem sie zuerst im Exsiccator und dann bei 100° C. bis zum constanten Gewicht getrocknet worden waren, lieferten bei der Verbrennung folgende Zahlen:

0.2211 g mit Kupferoxyd verbrannt, gaben 0.2221 g $CO_2$ und 0.0710 g $H_2O$, oder 27.39 Proc. C und 3.56 Proc. H.

0.2496 g gaben 0.2508 g $CO_2$ und 0.0816 g $H_2O$, oder 27.40 Proc. C und 3.63 Proc. H.

0.1533 g nach der Methode von Dumas verbrannt, lieferten 61.5 ccm N-Gas bei 13° C. und 705 mm B., oder 43.84 Proc. N.

Die Formel $C_3N_4H_4O_2$ verlangt:

| Berechnet: | | Gefunden: I. | II. | |
|---|---|---|---|---|
| $C_3 = 36$ | 28.12 Proc. | 27.39 Proc. | 27.40 Proc. | C |
| $H_4 = 4$ | 3.12 „ | 3.56 „ | 3.63 „ | H |
| $N_4 = 56$ | 43.75 „ | — | 43.84 „ | N |
| $O_2 = 32$ | 25.00 „ | — | — | |
| 128 | | | | |

Es war also hier reines Ammelid zurückgeblieben.

Demnach bildet sich bei der Behandlung des Melams mit heisser concentrirter Schwefelsäure nur Gerhardt'sches Ammelid, sonst kein anderes Product.

Da sich, wie ich nachgewiesen habe, aus Melam durch Schwefelsäure bei 100° C. in der Hauptsache schwefelsaures Melamin bildet, war anzunehmen, dass die Bildung des Gerhardt'schen Ammelids durch heisse Schwefelsäure ein secundäres Product sei, und zwar, dass sich das zuerst gebildete Melamin weiter zersetzt unter Austausch von Amid gegen Hydroxyl in Ammelid.

Ein directer Versuch mit Melamin sollte diese Vermuthung vollkommen bestätigen.

Chemisch reines Melamin wurde in drei Theile concentrirter Schwefelsäure gebracht und auf einem Sandbade bis 150° C. erwärmt. Der Verlauf der Reaction ist hier derselbe wie beim Melam, es findet starkes Aufschäumen statt und das Thermometer steigt bis 210° C. Die erkaltete Masse wurde dann mit Alkohol gefällt, ausgewaschen, kurz ebenso behandelt, wie oben beim Melam angegeben worden ist. Der Niederschlag verhielt sich gleich dem beim Melam erhaltenen. In Salpetersäure gelöst, gab er ein Salz, das sich vollständig als salpetersaures Ammelid zu erkennen gab.

Die Analysen lieferten damit übereinstimmende Zahlen.

0.1515 g, nach der Methode von Dumas verbrannt, lieferten 49.5 ccm N-Gas bei 13° C. und 717 mm B., oder 36.32 Proc. N.

Die Formel $C_3N_4H_4O_2 . HNO_3$ verlangt: 36.62 Proc. N.

Ebenso verhielt sich das Ammoniaksalz dem obigen gleich. — Die Zusammensetzung dieses interessanten Salzes ist mir leider noch nicht gelungen festzustellen. Es ist zu unbeständig, schon beim Auspressen zwischen Fliesspapier zersetzt es sich und geht ein Theil des Ammoniaks weg. Dass es jedoch ein Ammoniaksalz ist, glaube ich sicher annehmen zu dürfen. Dazu berechtigt mich eine Analyse, die ich davon ausführte, nachdem die Krystalle nur gut zwischen Fliesspapier ausgepresst worden waren, und dann nur zwei Stunden über Chlorcalcium gestanden hatten.

0.1874 g, nach der Methode von Dumas verbrannt, lieferten 71.5 ccm N-Gas bei 14° C. und 712 mm B., oder 41.92 Proc. N.

Die Formel $C_3N_4H_4O_2 . NH_3 . H_2O$ verlangt aber 42.9 Proc. N, während freies Ammelid 43.75 Proc. verlangt.

0.2868 g desselben Productes, einen Tag später verbrannt, lieferten 0.2630 g $CO_2$ und 0.1136 g $H_2O$, oder 25.00 Proc. C und 4.40 Proc. H.

Die Formel $C_3N_4H_4O_2 . NH_3$ verlangt C = 24.83 Proc., H = 4.83 Proc., N = 48.27 Proc. Dagegen verlangt $C_3N_4H_4O_2 . H_2O$, C = 24.66 Proc., H = 4.11 Proc., N = 38.35 Proc.

Der Wasserstoffbestimmung nach ist die zweite Formel wahrscheinlicher, wonach also zuerst Ammoniak wegginge und Ammelid mit Wasser zurückbliebe. Endgültig hätte dies nur eine Stickstoffbestimmung entscheiden können, die aber erst den folgenden Tag gemacht werden konnte, wo dann nur noch freies Ammelid geblieben war.

Ammoniak und Wasser direct zu bestimmen aus dem Verluste, ist mir nicht geglückt, die gefundenen Zahlen sind immer zu niedrig ausgefallen.

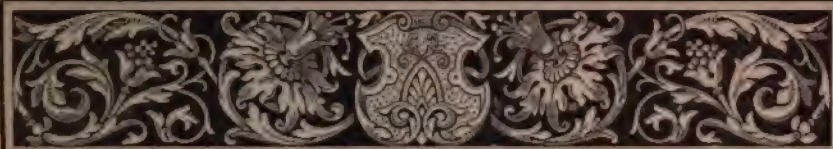
Wie ich gezeigt habe, bildet sich aus dem Melam, je nach der Heftigkeit der Einwirkung der Schwefelsäure, entweder Melamin und ein Körper, der in der Zusammensetzung am nächsten dem Ammelin steht, jedenfalls aber ein Gemenge verschiedener Producte ist, oder nur Gerhardt'sches Ammelid; ein Liebig'sches Ammelid bildet sich nicht.

Nach einer anderen Vorschrift von Liebig soll man Ammelid von der Zusammensetzung $C_6N_9H_9O_3$ erhalten durch Erhitzen des salpetersauren Ammelins so lange, bis die breiige Masse wieder fest geworden ist. Auch Knapp bestätigt diese Bildung des Ammelids, während Gerhardt angiebt, dass auch hierbei sein Ammelid entstände. — Gabriel, der auch diesen Versuch wiederholt hat, giebt an, dabei einen Körper erhalten zu haben, der 50 bis 51 Proc. N enthalten soll. Zu gleichen Resultaten bin ich, bei den zahlreichen Versuchen, die ich darüber angestellt habe, gekommen. Es ist mir gelungen, auf diese Weise eine Substanz zu erhalten, die sich wie eine Base verhält, mit Säuren wohl krystallisirende Salze giebt, welche sich nicht durch Wasser zu zersetzen scheinen. Ich habe bis jetzt nur einmal die freie Substanz analysirt und dabei 51.29 Proc. N gefunden, also eine Zahl, die mit der von Gabriel gefundenen übereinstimmt.

Ich gedenke später diese Verbindung genauer zu untersuchen.

Da Gabriel auch nach der Knapp'schen Vorschrift kein Liebig'sches Ammelid erhalten hat, so ist nun wohl als feststehend anzunehmen, dass eine Substanz von der Zusammensetzung des Liebig'schen Ammelids nicht existirt, oder sich doch wenigstens nicht aus dem Melam und Ammelin bildet. Das Gerhardt'sche Ammelid dagegen erhält man, ausser aus Harnstoff, nur aus Melam als secundäres Product oder direct aus Melamin, nicht aber aus salpetersaurem Ammelin und aus Melam und Salpetersäure, die daraus entstehenden Producte bedürfen noch weiterer Untersuchung.

---

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Nencki, in dessen Laboratorium diese Arbeit ausgeführt wurde, an dieser Stelle meinen Dank auszusprechen für die Freundlichkeit, mit welcher er mich bei der Ausführung vorstehender Untersuchungen unterstützt hat.

# 1877.

## Ueber die flüchtigen Bestandtheile der menschlichen Excremente

von

**L. Brieger.**

Ber. **10**, 1027. (Eingegangen am 28. Mai; verlesen in der Sitzung von Herrn Eugen Sell.)

Die letzten Arbeiten von Nencki[1]), sowie auch die von Jeanneret[2]) über die Zersetzung von Eiweiss und Gelatine bei der Fäulniss mit Pankreas haben sowohl über die Producte der Fäulniss als auch über das Wesen derselben wichtige Aufschlüsse verschafft. Nachdem nun Nencki[3]) auf Grund seiner Untersuchungen betonte, „dass die normale Darmverdauung zum guten Theil Fäulniss ist", wurde es wünschenswerth, auch die Producte der Zersetzung unserer Nahrungsstoffe im Darme einer erneuten Untersuchung zu unterwerfen. Auf Veranlassung des Herrn Prof. v. Nencki und unter dessen Anleitung habe ich seit Beginn des verflossenen Winters eine Reihe von Untersuchungen hierüber unternommen, und obgleich meine Arbeiten noch nicht zum Abschlusse gediehen sind, sehe ich mich veranlasst, die bis jetzt erhaltenen Resultate zu veröffentlichen, bewogen durch die letzten Publicationen von Baumann[4]) und Salkowski[5]), um mir dieses Gebiet der Untersuchung zu reserviren.

Die Verarbeitung der Producte der einzelnen Abschnitte des Darmrohrs vom Menschen bietet wegen der Schwierigkeit, sich grosse und doch zur Verarbeitung nothwendige Quantitäten auf einmal zu verschaffen, weniger Aussicht auf erfolg-

---

[1]) Ueber die Zersetzung des Eiweisses und der Gelatine bei der Fäulniss mit Pankreas. Bern 1876, S. 37. — Dieser Band S. 181.

[2]) Untersuchungen über die Zersetzung von Gelatine und Eiweiss durch die geformten Pankreasfermente bei Luftabschluss. Inaugural-Dissertation, Leipzig 1877 und Kolbe's Journal für praktische Chemie 1877.

[3]) Ueber das Indol. Ber. **8**, 722. — Dieser Band S. 115.

[4]) Ueber die Bildung von Phenol bei der Fäulniss von Eiweisskörpern. Ber. **10**, 685.

[5]) Ueber die Entstehung des Phenols im Thierkörper. Ebendaselbst **10**, 842.

reichen Gang der Untersuchung. Ich habe daher zunächst vorgezogen, mich mit der Zusammensetzung der nicht resorbirten Umsetzungsproducte des Dickdarms bekannt zu machen, indem ich erwarten durfte, durch die genaue Kenntniss der einzelnen Bestandtheile in den Fäces dieselben auch leichter bei der Untersuchung des Dünndarminhaltes auffinden zu können.

Ich habe mich zuerst mit der Untersuchung der flüchtigen Bestandtheile der Excremente aus saurer Lösung beschäftigt. Es wurden dabei die flüchtigen Fettsäuren: Essigsäure, normale und Isobuttersäure, sowie die aromatischen Substanzen: Phenol, Indol und eine neue dem Indol verwandte Substanz, die ich Skatol nennen werde, erhalten. — Vorausschicken will ich, dass dazu nur die normalen Fäces von Gesunden und Reconvalescenten der hiesigen medicinischen Klinik verwendet wurden, und sorgfältig darauf geachtet wurde, dass bei etwaigem Arzneigebrauch für meine Untersuchungen indifferente Stoffe (Acid. muriat., Natr. bicarb. u. s. w.) verabreicht wurden.

Die Isolirung der flüchtigen Fettsäuren geschah wie folgt: Die täglichen Excremente von 8 bis 10 Individuen wurden mit Wasser zu einem Brei angerührt, von den gröberen Beimengungen mittelst Filtriren durch ein Drahtnetz befreit, mit 20 ccm englischer Schwefelsäure angesäuert und aus einer tubulirten Glasretorte destillirt, das saure Destillat genau mit Natronlauge neutralisirt und auf dem Wasserbade verdunstet. Bei hinreichender Concentration krystallisirt das essigsaure Natrium aus. Der Krystallbrei wurde mit absolutem Alkohol übergossen, von dem essigsauren Salze filtrirt und das Filtrat nach Verjagung des Alkohols mit Schwefelsäure zersetzt. Die abgeschiedenen öligen Säuren wurden über Chlorcalcium, dem etwas Aetzbaryt, um etwa frei gewordene Salzsäure zu binden, zugesetzt worden, getrocknet und rectificirt.

Bei dieser Darstellung der Fettsäuren konnte ich wiederholt beobachten, dass bei ihrer Rectification der Quecksilberfaden rasch auf 120° C. stieg, allmählich auf 160° sich erhob und bei 160 bis 165° C. die höchst siedende Fraction überging. Die zwischen 120 bis 160° C. übergehende Hauptmenge wurde noch einmal destillirt und die zwischen 158 bis 165° C. bei 720 mm Bst. übergegangene Fraction in das Silbersalz verwandelt. Eine Silberbestimmung des so erhaltenen Salzes ergab 55.73 Proc. Ag. Buttersaures Silber verlangt 55.28 Proc. Ag. Die unter 158° C. siedende Fraction wurde in der Erwartung, dass sie ein Gemisch von Essig- und normaler Buttersäure sei, mit kohlensaurem Guanidin neutralisirt und durch Erhitzen des Guanidinsalzes in das entsprechende Guanamin übergeführt, um so auch durch die Krystallform des Guanamins der normalen Buttersäure die Anwesenheit derselben zu constatiren. Wider Erwarten war die erhaltene Base schwerer löslich in Wasser als das Guanamin der normalen Buttersäure und zeigte unter dem Mikroskope die für das Guanamin der Isobuttersäure so charakteristischen spitzen Rhomboëder. Ein Vergleich der frisch aus reiner Isobuttersäure dargestellten Base zeigte, dass das Guanamin der Säure aus Fäces mit dem der reinen Isobuttersäure identisch war. Etwa $^3/_4$ der flüchtigen Fettsäuren der Fäces macht die Essigsäure aus. Man braucht das Acetat nur einmal aus Alkohol umzukrystallisiren, um es völlig rein zu erhalten. 0.791 g des lufttrockenen Salzes verloren 0.3124 g oder 39.5 Proc. $H_2O$. Die Formel

$C_4H_7O_2Na + 3H_2O$ verlangt 39.7 Proc. $H_2O$ und 0.4786 g des trockenen Salzes gaben 0.412 g $SO_4Na_2$ oder 27.9 Proc. Na. Für $C_2H_3O_2Na$ wurden berechnet 28.04 Proc. Na. Ausser Essig- und den beiden Buttersäuren kommen in minimalen Spuren noch höhere Fettsäuren vor, die ich jedoch erst bei der Destillation von etwa 50 kg menschlicher Excremente isolirt habe und mit deren Untersuchung ich gegenwärtig beschäftigt bin.

Für die Isolirung der flüchtigen aromatischen Substanzen wurde nach mehrfachen Versuchen folgendes Verfahren als das zweckmässigste befunden:

5 bis 6 kg frischer Fäces werden mit 8 Liter Wasser zu einem Brei angerührt, mit 150 bis 200 ccm 30 procentiger Essigsäure angesäuert und in einer kupfernen Blase auf dem Sandbade destillirt, bis die Menge des übergegangenen Destillats etwa sechs Liter beträgt. Das Destillat wurde mit Natron neutralisirt, mit Aether ausgeschüttelt und die ätherische Lösung auf ein kleines Volumen abdestillirt. Der Rest des Aethers, in einer kleinen Schale verdunstet, hinterlässt einen geringen öligen Rückstand, der beim Stehen an der Luft meistentheils krystallinisch erstarrt und wesentlich aus Skatol besteht, neben geringen Quantitäten von Phenol, Indol und anderen unbekannten Substanzen, die ich wegen der geringen Menge nicht näher charakterisiren konnte. Der ätherische Rückstand, mit wenig heissem Wasser gekocht, löst sich zum grössten Theil auf und beim Erkalten der heiss filtrirten Lösung krystallisirt das Skatol aus, während die geringen Mengen anderer Substanzen, namentlich Indol, in Lösung bleiben. Das Skatol, wie ich diese aus der heissen, wässerigen Lösung krystallisirende Substanz nennen will (von τὸ σκατός = Fäces), scheidet sich in unregelmässig gezähnelten, glänzenden, dem Indol ähnlichen Blättchen aus, die, noch gefärbt, durch wiederholte Krystallisation aus heissem Wasser schneeweiss erhalten werden. Die Krystalle besitzen einen äusserst unangenehmen, anhaftenden, specifisch fäcalen Geruch. Ihr Schmelzpunkt wurde nach zwei- bis dreimaliger Krystallisation bei 93 bis 95° C. gefunden. In Wasser ist es etwas schwerer löslich als Indol; leicht ist es von letzterem kenntlich dadurch, dass es von Chlorwasser nicht gefärbt wird und die wässerige Lösung des Skatols, mit einem Tropfen rauchender Salpetersäure versetzt, gar keinen rothen Niederschlag, sondern eine weisse Trübung giebt. In warmer verdünnter Salpetersäure löst es sich auf, scheidet sich jedoch beim Erkalten unverändert aus. Längere Zeit mit Salpetersäure gekocht, wird es zersetzt, wobei nach Nitrophenol riechende Dämpfe entstehen.

Vom Naphthylamin, dem es an Geruch etwas ähnelt, unterscheidet es sich abgesehen von dem Schmelzpunkt (Naphthylamin schmilzt bei 50° C.) und der Krystallform auch besonders noch dadurch, dass die concentrirte wässerige Lösung des Skatols, mit salpetersaurem Silberoxyd gekocht, keine Trübung oder Farbenveränderung giebt, während, wie bekannt, Spuren von Naphthylamin, mit Silbernitrat erwärmt, in den Piria'schen Farbstoff, das Naphthamein, übergehen. Leider haben die Elementaranalysen mit Präparaten verschiedener Darstellung keine übereinstimmenden Zahlen ergeben. Es scheint den Krystallen eine kohlenstoff- und wasserstoffreichere Substanz anzuhaften; wenigstens ergaben die Präparate nach zweimaligem Umkrystallisiren einen niedrigeren Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt. So ergab das einmal umkrystallisirte Präparat 84.80 Proc. C und 7.93 Proc. H.

entnommene Urin schon mit roher Salzsäure allein versetzt diese violettrothe Farbe, wie man sie durch Zusatz von roher Salzsäure zu menschlichem Harn beobachtet. Selbstverständlich zeigte der vorher zur Controle ausgepresste Urin keine Aenderung, weder bei Salzsäure- noch Chlorkalkzusatz.

Aus der gefärbten Lösung scheidet sich ein schmutzig violetter Farbstoff aus, der kein Indigo ist, trocken erhitzt nicht sublimirt und amorph ist. In absolutem Alkohol und concentrirter Schwefelsäure löst er sich mit weinrother Farbe. Vollständiger wird dieser Farbstoff durch Salzsäure und einige Tropfen Chlorkalklösung abgeschieden.

Ich habe diese Injectionsversuche mehrfach, aber stets mit gleichem Resultate wiederholt. Da das Skatol ein normales Product der Darmfäulniss beim Menschen ist, so erklärt sich hieraus das verschiedenartige Verhalten des menschlichen Harns bei der Indicanprobe. Ist mehr Indol im Harn entstanden, resp. resorbirt worden, so überwiegt die Farbe des Indigos und die Probe erscheint dann dunkelgrün oder blau. Ist mehr Skatol resorbirt worden, so ist die Probe violettroth.

Das Phenol ist ein constanter Bestandtheil der menschlichen Fäces, was nicht verwundern kann, seitdem Baumann es als constantes Product der Fäulniss erkannte. Zu seiner Darstellung wurden die Mutterlaugen von der ersten Krystallisation des Skatols mit Kalilauge versetzt und destillirt. Die Destillation wurde so lange fortgesetzt, bis im Destillat weder Indol noch Skatol nachzuweisen war. Der Rückstand in der Retorte wurde sodann mit Schwefelsäure angesäuert, von einem stets dabei entstehenden amorphen Körper filtrirt und von Neuem destillirt. Das jetzt erhaltene Destillat giebt mit Eisenchlorid eine violette Farbe und durch Zusatz von Bromwasser wird daraus Tribromphenol als flockiger, aus feinen Nadeln bestehender Niederschlag ausgefällt. Ich erhielt von ca. 50 kg Fäces 0.2496 g Tribromphenol, welches durch Sublimation gereinigt wurde und sodann bei 95° C. schmolz.

Neben dem Phenol scheinen noch andere ihm näher stehende Substanzen dabei aufzutreten, wenigstens hatte das Destillat immer einen starken kreosotähnlichen Geruch. Ich brauche kaum zu erwähnen, dass die zur Darstellung des Phenols verwendeten Excremente von Individuen herrührten, die weder Salicylsäure noch Phenol als Arznei gebrauchten. Auch wurde das Phenol in verschiedenen Versuchen nach der obigen Methode stets erhalten.

Schon die bisherigen Resultate zeigen zur Genüge, dass die specifischen Producte der Fäulniss normale Bestandtheile der Darmverdauung sind. Abgesehen von der Bedeutung dieser Untersuchungen für die Erkenntniss der Fäulniss und des normalen Zerfalls unserer Nahrungsstoffe im Darm, wird hier auch ein reiches Feld für die Pathologie des Stoffwechsels eröffnet.

Bern, im Mai 1877.

---

# Zur Kenntniss der Fäulnissprocesse

von

**M. Nencki.**

Ber. 10, 1032. (Eingegangen am 28. Mai; verl. in der Sitzung von Herrn Eugen Sell.)

Die Resultate der Arbeit des Herrn Brieger zeigen, wie viel noch von der fortgesetzten Untersuchung des Darminhalts für die Erkenntniss des thierischen Stoffumsatzes zu erwarten ist. Schon jetzt wird dadurch das Vorkommen einer Anzahl von Substanzen im normalen Harne verständlich. Indol, Skatol, Phenol entstehen aus dem Eiweiss im Darmrohr. Das letzte und wahrscheinlich auch die ersteren treten nach den schönen Untersuchungen des Herrn Baumann in Form einer Aetherschwefelsäure im Harne auf. Von keinem von den Spaltungsproducten des Eiweisses ist die Entstehung und die successive Umsetzung bis zur Ausscheidung durch die Niere so wohl bekannt als wie gerade von diesen durch die Fäulniss im Darme entstehenden Substanzen. Diese Bestandtheile zeigen ferner, wie different schon die flüchtigen Bestandtheile des Dickdarms beim Hunde und beim Menschen sind. Aehnliche Untersuchungen über den Darminhalt der Pflanzenfresser werden gewiss zu interessanten vergleichenden Resultaten führen. Der Ausspruch Baeyer's, dass das Indol „ein in der Chemie ohne Analogon dastehender Körper ist", trifft nicht mehr zu, da das Skatol in seinem ganzen chemischen Verhalten dem Indol gleicht. Allem Anscheine nach entsteht das Skatol neben dem Indol auch beim Schmelzen von Eiweiss mit Kali — der Schmelzpunkt des von Engler und Janecke erhaltenen Products war nie constant und schwankte nach Kühne zwischen 91 bis 92° —, was dem von Herrn Brieger für das Skatol Beobachteten sehr nahe steht; auch die von Engler und Janecke erhaltenen analytischen Zahlen zeigen, dass ihr Präparat keineswegs rein war. Ich bin mit der Wiederholung dieser Versuche beschäftigt, schon deshalb, um die Producte eines biologischen Processes auch künstlich, wie hier durch Kalischmelze, erhalten zu können.

Die Bildung solcher flüchtigen, eigenthümlich riechenden Substanzen durch den Lebensprocess der geformten Fermente steht übrigens nicht vereinzelt da. Gelegentlich einer Untersuchung, die Fr. Nadina Sieber in meinem Laboratorium über die Zusammensetzung des Roqueforter Käses in frischem Zustande und nach längerem Liegen unternommen hat und die wesentlich die Erledigung der zwischen Blondeau und Brassier streitigen Frage, ob beim Reifen des Käses aus Eiweiss Fett wird, bezweckte, konnte ich beobachten, dass aus altem Roqueforter Käse durch Destillation mit verdünnter Schwefelsäure oder auch Essigsäure constant eine flüchtige Materie isolirt werden kann, die diesem Käse den specifischen pikanten Geruch und Geschmack verleiht. Ein 2 kg wiegender Käse von einem Grosshändler in Paris mit der Bemerkung „le plus vieux que possible" bezogen, der ganz brüchig

und von Schimmelpilzen gänzlich durchsetzt war, zeigte unter dem Mikroskop fast nur die bereits von Blondeau[1]) analysirten Penicilliumfäden neben sehr spärlichem *Bacterium Termo*. Der Käse enthielt in 100 Theilen 19.94 Proc. $H_2O$, 35.11 Fett, 5.24 Ammoniak neben wenig Amylamin. Der Rest bestand aus flüchtigen Fettsäuren, viel Tyrosin, Leucin und peptonartigen Materien. Wurde ein Pfund davon mit Wasser zu einem dünnen Brei zerrieben, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und destillirt, das Destillat filtrirt, mit NaOH neutralisirt und mit Aether geschüttelt, so hinterliess der ätherische Auszug ein sehr flüchtiges, wenig gelb gefärbtes Oel von scharfem, brennendem Geschmack, neutraler Reaction und dem specifisch modrigen Schimmelgeruch, der das ganze Laboratorium erfüllte. Leider krystallisirte das Oel nicht und es gelang auch nicht, es in irgend eine analysirbare Form zu bringen.

Schliesslich möchte ich hier eine die Darstellung des Indols durch Fäulniss betreffende Bemerkung hinzufügen. E. Baumann[2]) machte die Beobachtung, dass bei der pankreatischen Fäulniss constant neben Indol geringe Mengen Phenol entstehen, deshalb sei das nach meinen Angaben dargestellte Indol phenolhaltig. In meiner Vorschrift heisst es aber ausdrücklich, man solle das rohe, ölige Indol aus heissem Wasser umkrystallisiren[3]). Solches Indol schmolz im capillaren Röhrchen bei 52° C. und ergab bei der Elementaranalyse 81.51 Proc. C und 6.48 Proc. H nach einmaligem und 81.81 Proc. C und 6.30 Proc. H nach zweimaligem Umkrystallisiren. Ich glaube schwerlich, dass Injectionsversuche mit genau nach meiner Vorschrift bereitetem Indol eine Phenolausscheidung im Harne bewirken würden, und muss annehmen, dass Herr Salkowski[4]) dazu das rohe Indol, wie es nach Verdunsten des Aethers zurückbleibt, benutzte. Als das billigste und ergiebigste Material für die Bereitung des Indols kann ich übrigens auf Grund meiner Erfahrungen das Pankreas selbst empfehlen. Vier bis fünf fein zerhackte Ochsendrüsen mit fünf Liter Wasser vier Tage lang bei 40° digerirt, liefern eine viel grössere Menge Indol, als ich sie sonst aus gleicher Menge Eiweiss erhielt. Ich bewahre seit mehreren Monaten ein so erhaltenes, einmal aus Wasser umkrystallisirtes Präparat, das noch bis heute weiss geblieben ist.

Bern, im Mai 1877.

---

[1]) Annal. de Chim. et Phys. 3. série I, 1864, p. 208.
[2]) Ber. **10**, 685.
[3]) Ber. **8**, 726. — Dieser Band S. 118.
[4]) Ber. **10**, 843.

# Untersuchungen über die Zersetzung von Gelatine und Eiweiss durch die geformten Pankreasfermente bei Luftausschluss

von

**J. Jeanneret.**

(Hierzu Tafel III.)

In.-Diss. Bern. — J. pr. Ch. **15**, 353. Seinem hoch- verehrten Lehrer Herrn Dr. M. von Nencki, Professor der physiologischen Chemie in Bern, hochachtungsvoll gewidmet vom Verfasser.

Nachdem Herr Prof. Nencki eine lange Versuchsreihe zur Feststellung der Zersetzungsproducte von Gelatine und Eiweiss durch Pankreas bei Luftzutritt[1]) abgeschlossen hatte, übernahm ich auf seine Veranlassung hin nach einigen Vorarbeiten die Untersuchung der Frage, ob der nämliche Fäulnissprocess auch bei Ausschluss der atmosphärischen Luft durch die geformten Pankreasfermente verursacht wird.

Da nämlich Pasteur[2]), wie sich aus den letzten Publicationen ergiebt, erwiesen hat, dass die Hefe auch bei Ausschluss der Luft wachsen könne und er die Gährung als eine Folge des Lebens ohne freien Sauerstoff betrachtet, lag der Gedanke nahe, zu untersuchen, wie sich in dieser Beziehung die anderen geformten Fermente stickstoffhaltigen Körpern gegenüber verhalten. Man versprach sich um so mehr davon, als nach Pasteur die Hefe das Maximum ihrer chemischen Wirksamkeit auf ihre Substrate entwickelt, wenn ihr ein Minimum freien Sauerstoffs zur Verfügung steht und umgekehrt[3]) und die Einwirkung von Bacterien auf Proteïnstoffe, wie diejenige der Hefe auf Zucker biologisch der gleiche Process ist.

Bei der Gährung des Zuckers erfolgt jedoch, chemisch betrachtet, nur eine molekulare Umlagerung der Elemente im Sinne der Alkohol- und Kohlensäurebildung, abgesehen von den geringen Mengen Glycerins, der Bernsteinsäure, Cellulose u. s. w. Die Zersetzung stickstoffhaltiger Substanzen aber lieferte an der Luft in grosser Menge Producte, welche auf Oxydations- und Reductionsprocesse schliessen lassen, so dass die Entstehung einfacherer Verbindungen hier durch Umtausch gewisser Elemente mit denjenigen anderer Medien der Luft oder des Wassers zu erklären war. Sollte dies auch bei Ausschluss der Luft der Fall sein, oder liess sich ein Unterschied zwischen diesem und dem bei Luftzutritt sich abwickelnden Vorgang nachweisen?

Aber auch aus anderen Gründen war es in hohem Maasse wünschenswerth, das Verhalten der geformten Pankreasfermente gegenüber den Nahrungsstoffen zu

---

[1]) Bern 1876, Commiss.-Verlag J. Dalp (Festschrift).
[2]) Etudes sur la bière 1876, p. 261.
[3]) Comptes rendus de l'Academ. 1875.

I.

II.

III.

[illegible] Opera omnia.

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn in Braunschweig.

untersuchen. Nachdem es als erwiesene Thatsache zu betrachten ist, dass die Zersetzung der Nahrungsstoffe im Darmrohr der Thiere zum Theil durch die nach dem unteren Theil des Darmes immer stärker ausgebildeten geformten Fermente[1]) bedingt wird und es aus den Analysen von Ruge[2]), Marchand und Chevreul[3]) bekannt ist, dass gewöhnlich schon im Dünndarm, vollends aber im Dickdarm der Sauerstoff fehlt, war es von Interesse, zu erfahren, wie die Fäulniss bei Ausschluss dieses Gases auch ausserhalb des Organismus sich gestaltet, um so eine genauere Einsicht in die Fäulnissprocesse des Darmrohres zu gewinnen.

Von chemischen Untersuchungen über die Zersetzung stickstoffhaltiger Substanzen durch geformte Fermente und bei Ausschluss der Luft ist bisher äusserst wenig publicirt worden, trotzdem dieses Thema aufs Innigste mit der so vielfach ventilirten Frage der Entstehung niedrigster Organismen zusammenhängt. Was in der Literatur zu finden ist, bezieht sich fast ausschliesslich auf die Untersuchung der Fäulnissgase.

So analysirte Hüfner im Verlauf seiner eingehenden Arbeiten über ungeformtes Pankreasferment[4]) auch die Fäulnissgase des Fibrins, und beweist, dass die Bacterien keiner Luft zu ihrer Weiterentwickelung bedürfen[5]).

Kunkel[6]) und auch Gréhant[7]) beschäftigen sich ebenfalls mit den bei der Fäulniss von Fibrin gesammelten Gasen, worauf ich noch später zurückkommen werde.

Von Brendecke's Untersuchungen giebt Gerhard[8]) eine kurze Notiz; derselbe soll auch die festen Producte der Fäulniss von Fibrin bei Luftabschluss berücksichtigt haben, doch war es nicht möglich, seine Originalarbeit zu Gesicht zu bekommen.

Nach vielen Versuchen, einen Apparat zur Herstellung des Luftabschlusses einzurichten, wurde folgendes Verfahren gewählt und als einfachstes und bestes auch bei sämmtlichen Versuchen in Anwendung gezogen:

Ein 1½ oder 2 Liter fassender Glaskolben wurde mit einem sehr genau passenden, einfach durchbohrten, neuen Kautschukpfropfen fest verschlossen, durch welchen eine nach abwärts zweimal in rechtem Winkel gebogene Glasröhre so durchgeführt war, dass ihr kürzerer Anfangstheil sich genau im Niveau der unteren Pfropfenfläche befand. Das untere längere Endstück der Röhre reichte etwa bis zum Anfang des unteren Kolbendrittels und war mittelst eines Stückes Kautschukröhre mit einem kurzen, unten gekrümmten Ansatz von Glas verbunden, dessen offenes Ende nach oben gerichtet war.

Die Beschickung des Apparates geschah wie folgt: Die schon längere Zeit hindurch gekochte, eben bereitete Lösung (von Gelatine oder Zucker) wird in den Kolben gebracht und nimmt drei Viertel seines Raumes ein, der Pfropfen wird fest

---

[1]) Nencki's Festschrift, S. 36. — Dieser Band S. 181.

[2]) Gautier, Chim. phys. **1**, 426 u. 435.

[3]) Valentin, Grundzüge der Physiol. 4. Aufl., S. 92.

[4]) Journ. f. prakt. Chem. v. Kolbe, **11**, N. F. 1875, S. 55.

[5]) Journ. f. prakt. Chem. v. Kolbe, **13**, N. F. 1876, S. 475.

[6]) Verhandlungen d. phys.-med. Ges. Würzburg, N. F. **8**, 134.

[7]) Gazette médic. de Paris 1874.

[8]) Org. Chemie **4**, 493.

aufgesetzt, während das untere Ansatzstück der Röhre in eine grössere, mit destillirtem, fortwährend im Kochen erhaltenem Wasser gefüllte Schale taucht. Der Kolbeninhalt wird auf dem Sandbade in Kochen versetzt und eine halbe Stunde in wallendem Sieden erhalten, so dass die Luft aus dem Kolben durch die Röhre entweicht und durch Wasserdämpfe ersetzt wird. Hieraufwird die Flamme unter dem Kolben entfernt, und allmählich ersetzt das kochende Wasser der Schale das durch Condensation der Dämpfe entstandene Vacuum vollständig. Wenn der Apparat luftdicht schliesst, so ist bei gelungenem Versuche keine einzige Luftblase, weder im Kolben, noch in der abführenden Röhre zu sehen. Bis zur gehörigen Abkühlung des Kolbens (was bei der Gelatine erst nach mehreren Stunden erfolgt) wird das Wasser in der Schale natürlich im Kochen erhalten. Nun werden von einer ganz frischen, noch alkalisch oder neutral reagirenden Pankreasdrüse vom Ochsen kleine Stückchen aus dem innersten Theile des Kopfes, unter sorgfältiger Vermeidung von Fett, mit der Scheere ausgeschnitten und ein kleiner ausgeglühter Porcellantiegel damit gefüllt. Die Drüse (6.0 g) übergoss ich sodann im Tiegel mit kochend heissem Wasser, um die etwaigen Lücken zwischen den einzelnen Stückchen auszufüllen. Die Kautschukverbindung der abführenden Röhre hielt ich hierauf mit einer Péan'-schen Sperrpincette fest zusammengedrückt, hob den Pfropfen aus dem Kolben, ohne dass ein einziger Tropfen die Röhre verlässt, und liess schnell den gefüllten Tiegel in die Flüssigkeit herunter. Man füllt den vor dem Lüften vom Pfropfen eingenommenen Theil des Kolbenhalses bis zum Ueberlaufen mit siedend heissem Wasser und setzt Pfropfen sammt Röhre wieder auf, während die Sperrpincette gleichzeitig entfernt wird. Das überflüssige Wasser tritt zur abführenden Röhre heraus. Man bringt es bei einiger Sorgfalt leicht dazu, dass auch nicht die Spur Luft eintritt: der Inhalt des Kolbens und seines Abführungsrohres bildet eine einzige homogene Flüssigkeitssäule. Den Kolben brachte ich, auf einem Strohkranz gelagert, in einen gegen 10 Liter fassenden, als Wasserbad dienenden eisernen Topf, dessen Wasser Tag und Nacht einer Temperatur von 35 bis 40° ausgesetzt ist. Das Endstück der Röhre ward dagegen zur Erzielung eines hermetischen Verschlusses permanent unter Quecksilber gehalten.

In den ersten 24 Stunden nach Zusatz des Pankreas tritt gewöhnlich die erste Gasentwickelung im Kolben ein und zwar geht sie offenbar von der Drüse aus, da diese in toto den Tiegel verlässt, emporsteigt und fortan beständig unter dem Pfropfen bleibt. Dabei ist sie in Eiweiss- und Zuckerlösungen schön hellgelb, sieht aber in Gelatinelösung schmutzig schwärzlich, wie pigmentirt aus. Die Flüssigkeit wird allmählich aus der Röhre verdrängt und sammelt sich aussen über dem Quecksilber an, so dass schliesslich das ganze abführende Rohr nur noch von den entwickelten Gasen eingenommen wird. Dies der gewöhnliche Verlauf bei Eiweiss, Rohrzucker- und Milchzuckerlösungen, wenn nicht etwa die durch die heftige Gasentwickelung mitgerissene Drüse die Röhre verstopfte und — Nachts — der Kolben durch den stark erhöhten inneren Druck gesprengt wurde. Bei der Gelatine trat die erste Gasentwickelung gewöhnlich etwas später ein, nach zweimal 24 Stunden im Mittel, was vielleicht dadurch bedingt war, dass die ganze Gelatinesäule des Ableitungsrohres, welches natürlich der Temperatur des Wasserbades nicht unterworfen

war, aber doch längs der äusseren Wand des eisernen Topfes verlief, erstarrte, so dass sogar das Quecksilber anfing zurückzusteigen. Traten dann die ersten Gasblasen auf, so waren sie unter einem bedeutend stärkeren Druck, wurden vielleicht zum Theil von der Flüssigkeit absorbirt und so schien der ganze Process bedeutend verzögert den anderen Substanzen gegenüber. Ich betone den Umstand, dass der Boden des Kolbens springt, während der Kautschukpfropfen fest in seinem Halse sitzen bleibt, weil ich darin, wie im Zurücksteigen des Quecksilbers, eine Garantie für diesen Verschluss sehe. Da mir in Folge des erwähnten Umstandes mehrere Kolben sammt Inhalt zu Grunde gingen, suchte ich die fest gewordene Gelatine in der Röhre durch zeitweiliges Erhitzen mit einer Gasflamme flüssig zu erhalten, bis zum ersten Zeichen der Zersetzung, d. h. mit der eintretenden Trübung die Gelatine auch leichtflüssig zu bleiben begann.

## A. Analyse der Zersetzungsproducte von Gelatine bei Luftabschluss.

Zu diesen Versuchen verwendete ich Gelatine I. Qualität aus Höchst, wie Herr Prof. Nencki. Nach seinen Analysen ergiebt sie 16.97 Proc. Wasser, nachdem sie bis zum constanten Gewicht einer Temperatur von 115° ausgesetzt worden; ferner liefert sie getrocknet 1.62 Proc. Asche. Der Eiweissgehalt des Pankreas wird auch zu 15 Proc. berechnet. Bei der quantitativen Bestimmung werden diese Zahlen natürlich nach Wägung der Gelatine in Abzug gebracht. Die Analysen wurden ebenfalls nach den Angaben von Nencki ausgeführt:

Nach beendigter Digestion wurde die Flüssigkeit in eine circa 5 Liter fassende Retorte gebracht; der Tubulus derselben war durch einen Kautschukpfropfen mit einer in die Flüssigkeit tauchenden Glasröhre verschlossen und deren oberes Ende durch ein Stück Kautschukröhre mit dem Trichter verbunden, auf welchem eine heisse Barytlösung filtrirt wurde. War die letzte Portion der Lösung auf dem Filter, so wurde das Kautschukrohr fest zusammengeschnürt und mit einem Glaspfropfen verschlossen. Alles bei der Destillation entweichende $NH_3$ fing man in der Vorlage als HCl auf. Vom gemessenen Destillat wurden gewöhnlich 5 ccm zur Platinbestimmung verwendet, der Rest zur Trockne eingedampft und das erhaltene $NH_4Cl$ mit absolutem Alkohol ausgezogen, um etwaige organische Basen zu isoliren.

Der im Retortenrückstand befindliche Niederschlag von $BaCO_3$ ward auf ein Filter gebracht, getrocknet, gewogen und die $CO_2$ daraus bestimmt, das Filtrat dagegen zur Beseitigung des Baryts mit $H_2SO_4$ versetzt, filtrirt und nochmals, zur Gewinnung der Fettsäuren, destillirt. Das saure, wasserhelle Destillat neutralisirte ich, nach Titrirung mit einer Normalnatronlauge von 0.2884 Gehalt an Na in 20 ccm, dampfte ein bis zur Bildung der Krystallhaut, später noch bis zur Trockne und bestimmte die einzelnen Fettsäuren, wie bei jedem Versuch angegeben wird. Im $NH_3$ und säurefreien Rückstand befanden sich nur noch Glycocoll, Leucin je nach den angewandten Substanzen und der Rückstand mit den Peptonen. Von fünf mit Gelatine ausgeführten Versuchen konnte bei dreien die quantitative Bestimmung vorgenommen werden.

I. Versuch. 30. October 1876 Abends. Dauer: 3 Tage.

In 1500 ccm Aq. dest. waren 150.0 g Gelatine gelöst und 6.0 g Pankreas zugesetzt worden. Tags darauf schwimmt Morgens 8 Uhr die Drüse oben und findet Gasentwickelung statt, doch nur im Kolben. Am 1. November werden 38 ccm Gas in 30 Minuten aufgefangen und bis auf $^1/_2$ ccm durch KHO absorbirt. Am 2. Nov. fand ich den Kolben gesprungen, zum Theil leer.

II. Versuch. 2. November Abends. Dauer: 11 Tage.

In 2000 ccm Aq. dest. werden 200.0 g Gelatine gelöst und 6.0 g Pankreas hinzugesetzt = 164.27 g trockener, aschefreier Proteïnsubstanz. Am 3. November scheint die Gelatine in der Röhre erstarrt zu sein. Pankreas oben, doch findet erst am 3. Tage lebhafte Gasentwickelung statt. Die Gase riechen schon wie ein Gemisch von $H_2S$ und $CS_2$ oder „nach faulem Kohl"; diese stinkenden Gase werden, mit der $CO_2$ durch KHO absorbirt, beim Austreiben der $CO_2$ wieder frei. Durch Bleilösung längere Zeit hindurch geleitet, fällen sie daraus Schwefelblei. Während am 6. November z. B. in 23 Minuten 65 ccm Gas aufgefangen werden konnten, erhält man am 11. November nur noch 40 ccm in 45 Minuten und am 13. November wird der Versuch unterbrochen.

Nach sorgfältiger Entfernung der oben schwimmenden Drüse mit dem Löffel werden 200.0 g $BaO_2H_2$ auf angegebene Weise der nach Jauche intensiv riechenden Flüssigkeit zugesetzt und destillirt, des heftigen Stossens wegen aber nur drei Stunden hindurch. Das salzsaure Destillat betrug 760 ccm; in 5 ccm derselben fanden sich nach Herstellung und Glühen des Platinats 0.3765 Platin, entsprechend 0.05327 N oder in toto 9.832 $NH_3$, d. h. 5.98 Proc. der angewandten Gelatine. Das nach Evaporation erhaltene Salz versetzte ich noch mit Alkohol absol., filtrirte vom Salmiak ab und erhielt nach Entfernung desselben eine braunschwarze Kruste, welche, in Natronlauge gelöst und mit Aether geschüttelt, nach Verdunsten des letzteren einige Tropfen einer grünlich gelben, nicht unangenehm collidinähnlich riechenden öligen Flüssigkeit (leider so wenig, dass eine Analyse unmöglich war) ergab.

Die Menge des lange gewaschenen, getrockneten $BaCO_3$, welcher in der Retorte gefällt worden war, betrug 76.4 g, entsprechend 17.06 g $CO_2$ oder 10.38 Proc. der getrockneten Gelatine.

Den überschüssigen Baryt entfernte ich mittelst 70.0 g $H_2SO_4$ concentr. und mit doppelt so viel Wasser verdünnt, filtrirte und destillirte das klare hellgelbe Liquidum nochmals. Das Destillat betrug 2950 ccm, und waren davon 58.2 zur Neutralisation von 20 ccm der bei diesen Versuchen immer in Anwendung gezogenen Normalnatronlauge (von 0.2884 Gehalt an Na) nöthig. Aus diesen Zahlen ergiebt sich für die ganze Säuremenge, auf Buttersäure bezogen: 55.75 g oder 33.93 Proc., auf Essigsäure bezogen: 38.12 g, entsprechend 23.205 Proc. der Gelatine.

Hierauf wurde das Destillat mit Natronlauge neutralisirt und eingedampft; nach dem Filtriren der concentrirten Lösung krystallisirt plötzlich das Ganze zu einem

dicken Brei, und mikroskopisch zeigen sich die für Natriumacetat charakteristischen abgestumpften Säulen. Dieses Salz brachte ich nach Auszug mit absolutem Alkohol auf ein Filter und analysirte es; die in Alkohol löslichen Salze werden zur Trockne eingedampft, durch $H_2SO_4$ zerlegt und die sich abscheidenden Säuren auf $CaCl_2$ getrocknet und fractionirt. Etwa 7 ccm einer farblosen, nach Buttersäure riechenden Flüssigkeit wurden zwischen 150 und 160° aufgefangen, lösten sich in gleichem Volumen Wasser und lieferten, in Guanamine umgewandelt, die charakteristischen Krystalle des Guanamins der normalen Buttersäure. Die niedriger und höher siedenden Fractionen entzogen sich, ihrer minimalen Quantität wegen, einer weiteren Analyse.

Den letzten hellbraunen Rückstand neutralisirte ich genau; eingeengt krystallisirte dann bei Zusatz von Alkohol Glycocoll aus, wovon auf dem Filter 5.54 g getrockneter Substanz gesammelt wurden, also 3.372 Proc. der Gelatine. Die Lauge wieder mit $H_2SO_4$ behandelt und zu einem dicken Syrup eingedampft, liess nach 12 tägigem Stehen in der Kälte mit grösster Sicherheit Leucin mikroskopisch nachweisen, doch konnte dasselbe nicht mehr von dem stark anhaftenden Syrup gereinigt werden. Auch nach längerem Stehen und bei wiederholter Behandlung mit $H_2SO_4$ liess sich aus dem bitter schmeckenden, braunen, die Peptonreaction gebenden Syrup nichts mehr gewinnen.

III. Versuch. 9. November Mittags. Dauer: 19 Tage.

100.0 g Gelatine = 82.58 trockener, aschefreier Substanz (Pankreaseiweiss mit berücksichtigt) werden in 1500 ccm Aq. dest. gelöst und mit 6.0 g Pankreas, direct einem eben verbluteten Kalbe in Ermangelung der Ochsendrüse entnommen, versetzt; die Drüse ist sehr fest, derb, vom Aussehen einer Ohrspeicheldrüse. Am 10. Nov. steht die Drüse oben, nach zwei Tagen sieht die Lösung trübe aus, aber erst am dritten beginnt die Gasentwickelung und am vierten können zum ersten Mal Gasproben aufgefangen werden. Drüse schwärzlich.

Am 28. November wird der Versuch unterbrochen, die trübe, stechend riechende und alkalisch reagirende Flüssigkeit wird diesmal in vier Flaschen vertheilt und mit gleichem Volumen Aether geschüttelt, um wo möglich die stinkende Base direct zu erhalten. Vom abdestillirten Aether bleiben wieder nur wenige Tropfen eines harzölartigen Stoffes zurück, dessen höchst penetranter Geruch an Häringslake erinnert und auf einem sauer reagirenden, leichtflüssigen, wasserhellen Liquidum schwimmt. Der harzartige isolirte Stoff riecht, mit Natronlauge neutralisirt, entfernt nach Pfefferminze, kann aber der geringen Quantität wegen, nach Bildung des Platinsalzes, wieder nicht analysirt werden. Das unter dem Harze befindliche Liquidum wandelte man in ein Barytsalz um; das weisse Salz entwickelte, mit $H_2SO_4$ versetzt, den Geruch nach Essig- und Valeriansäure.

In Anbetracht, dass wir auch auf diese Weise nur geringe Quantitäten der Substanz gewonnen hatten, kehrten wir wieder zu dem ursprünglichen Verfahren zurück:

Das nach Zusatz von $BaH_2O_2$ erhaltene salzsaure Destillat betrug 2300 ccm, wovon 10 ccm einen Platinrückstand von 0.2231 hinterliessen, entsprechend

0.03156 g N, oder für das Ganze 7.2607 g N, resp. 8.81 g $NH_3$ oder 10.676 Proc. der Gelatine. Nach Auszug des getrockneten Salmiaks mit absolutem Alkohol erhielt ich noch einige Tropfen der mit Natronlauge einen Collidingeruch verbreitenden Substanz, leider wieder zu wenig, um ein Platinsalz darzustellen.

Im Retortenrückstand fanden sich 23.61 g trockenen $BaCO_3$, entsprechend 5.27 g $CO_2$ oder 6.38 Proc.; das barythaltige Filtrat, mit 35.0 g $H_2SO_4$ neutralisirt, filtrirt und mit dem Waschwasser des Baryumcarbonats versetzt, ergab 2330 ccm Destillat, wovon 98 ccm die bekannte Normalnatronlauge (20 ccm) zu neutralisiren im Stande waren. Wir erhalten somit für die Säuren folgende Werthe: 26.15 g oder 31.67 Proc. auf Buttersäure und 17.88 g = 21.65 Proc. auf die Essigsäure bezogen.

Das Ganze mit Natronlauge neutralisirte Destillat lieferte nach Extraction der anderen fettsauren Salze mittelst Alkohol 10.0 g reines essigsaures Natron. Der Alkoholrückstand enthielt nur zwei Arten von Krystallen: hellgelbe Vollkugeln, aus radiär angeordneten, aber dicht gedrängten Nadeln bestehend, und hexagonale dicke Tafeln resp. Prismen. Durch $H_2SO_4$ frei gemacht, entstanden 15 ccm eines braunen, öligen, sauren Liquidums, welches getrocknet und der fractionirten Destillation unterworfen wurde. Zwischen 120 und 160° gingen zwei Drittel über und stellten sich als ein Gemisch von Essigsäure und Buttersäure heraus; zwischen 160 und 168° erhielt man ein Drittel des Ganzen als farblose, auf Wasser schwimmende Flüssigkeit — Valeriansäure, wie die Rosetten der rhombischen Guanaminkrystalle ergaben.

Den sauren Retortenrückstand dampfte ich nach genauer Neutralisation mit $BaCO_3$ ein, bis sich die erste Krystallhaut darbot, dann fällte ich mit Alkohol, wobei Alles zu einem dicken Krystallbrei von längeren, zarten, rhombischen Tafeln mit abgerundeten seitlichen Ecken erstarrte. Das Filtriren wurde absichtlich unterlassen, die Substanz mit $CuCO_3$ gekocht und das filtrirte dunkelblaue Liquidum mit etwa dem gleichen Volumen Alkohol versetzt. Beim Erkalten krystallisirten schöne blaue, lange Büschel von Nadeln, die wie zwei gleichschenklige Dreiecke mit der Spitze gegen einander gekehrt sind. Unter dem Exsiccator getrocknet, betrug ihre Menge 9.627 g. Davon lieferten bei der Analyse 0.5257 g 0.1803 CuO oder 0.144 Cu, entsprechend 27.39 Proc., während aus der Formel für Glycocollkupfer 27.66 Proc. berechnet werden. Die Substanz war also Glycocoll. Aus dem Kupfersalz wurden 6.33 g Glycocoll berechnet, wozu noch 1.0 g aus der mit $H_2S$ behandelten Mutterlauge herauskrystallisirte, im Ganzen also bei diesem Versuch 7.33 g oder 8.88 Proc. Glycocoll.

Trotz der mannigfachsten weiteren Bearbeitung der Mutterlauge des abfiltrirten Glycocolls wurde aus dem Rückstande nichts mehr erhalten; die Menge der Peptone konnte aber in Folge dieser weiteren Verarbeitung auch nicht mehr bestimmt werden. — Für diesen, sowie die weiteren Versuche ist dieser Umstand von untergeordneter Bedeutung, da diese Substanzen immer noch keinen ausgeprägten chemischen Charakter besitzen und ihre Trennung von den unorganischen Bestandth[illegible] wer ausführbar ist.

IV. Versuch. 27. December Abends. Dauer: 2 Tage.

Auf 3000 ccm Aq. dest. kamen 200.0 g Gelatine und 6.0 g Pankreas. Am 28. December findet sich Gasentwickelung im Anfangstheil der Röhre und unter dem Zapfen; bis Abends aber ist die Drüse noch nicht emporgestiegen. Als dies auch noch am 29. December der Fall ist, wird der Kolben zur Untersuchung aus dem Wasserbade gehoben und der Boden desselben abgesprengt vorgefunden.

V. Versuch. 27. December Abends. Dauer: 16 Tage.

Es kamen 150.0 g Gelatine und 6.0 g noch warm zugesetzten Pankreas oder 123.43 g trockener Substanz auf 2000 ccm Aq. dest. zur Anwendung. Am 28. Dec. befindet sich die Drüse oben, die Gasentwickelung ist schwach und die in der Röhre befindliche Gelatine noch nicht ausgetrieben. Erst am 31. December findet dieses statt; da der Gasdruck auf der Gasanstalt plötzlich stark vermehrt worden, steigt das Thermometer an diesem Nachmittag auf 51°. Von da an bleibt die Gasentwickelung sehr regelmässig.

Unterbrechung des Versuchs am 13. Januar 1877. Zusatz von 150.0 g $BaH_2O_2$ und Destillation: salzsaures Destillat 1550 ccm. Davon geben 5 ccm 0.2198 Platin, entsprechend 0.0311 g N oder für das Ganze 9.6415 g N, resp. 11.707 g, d. h. 9.485 Proc. $NH_3$. Der Salmiak wurde wie früher eliminirt. Sein Aetherauszug lieferte wieder etwas mehr einer hellen, öligen, nach frischem Cacaopulver oder schwach nach Collidin riechenden Flüssigkeit, aus welcher ein Platindoppelsalz erstrebt, aber nicht erhalten wurde.

Die $CO_2$-Menge, aus 42.8 trockenem $BaCO_3$ berechnet, beträgt 9.559 g und entspricht 7.744 Proc. der gebrauchten Gelatine. — Aus dem mit 65.0 g $H_2SO_4$ neutralisirten Retortenrückstande lieferte das der Destillation unterworfene Filtrat 3040 ccm einer die flüchtigen Fettsäuren enthaltenden Flüssigkeit. — 76.6 ccm davon reichten aus, um 20 ccm der Normalnatronlauge zu neutralisiren, woraus sich für die Säuremenge folgende Zahlen berechnen lassen: auf Buttersäure bezogen 43.655 g oder 35.368 Proc., auf Essigsäure dagegen 29.844 g oder 24.18 Proc. Das neutralisirte und eingedämpfte Destillat lieferte 12.18 g trockenes, umkrystallisirtes Natriumacetat, von welchem eine Probe von 0.4041 g 0.1581 Krystallwasser oder 39.12 Proc. enthielt, während die Formel 39.70 Proc. verlangt. Das trockene Salz, 0.2460 g, wandelte ich in $Na_2SO_4$ um und erhielt 0.2138 davon, entsprechend 0.06925 oder für 0.246 Acetat 28.15 Proc. Na. Die Formel verlangt für essigsaures Natron 28.04 Proc. Na. — Was vom Acetat durch absoluten Alkohol aufgenommen wurde, behandelte ich, nach Beseitigung des Alkohols, mit $H_2SO_4$. Das abgeschiedene rosaroth gefärbte Oel ward alsdann mit der Pipette auf $CaCl_2$-Stücke gebracht und getrocknet. Leider war die Menge eine zu geringe, als dass die einzelnen Säuren nach der Rectification isolirt analysirt werden konnten. Die dargestellten Guanamine aber waren diejenigen der normalen Butter- und Valeriansäure.

Der mit Baryt neutralisirte Retortenrückstand ergab, eingeengt und später mit Alkohol versetzt, zuerst nach längerem Stehen an der Kälte kein Glycocoll, sondern

Schon am 21. Nov. früh war die Gasentwickelung auch nach aussen hin schon eine recht lebhafte; die ersten aufgefangenen Gasmengen (dies geschah wo möglich täglich) enthielten $H_2$ und $CO_2$, wie sich aus den späteren Tabellen ergeben wird, der Geruch nach $H_2S$ war erst am Abend wahrzunehmen. Die Drüse befand sich oben und schwärzte sich auch bis zum Ende des Versuchs nicht; durch die reichliche Gasentwickelung war ein Schäumen der Flüssigkeit an der Oberfläche sichtbar und fand eine beständige Wanderung der Eiweissstückchen nach oben und unten statt. Während Anfangs 34 ccm Gas in 32 Minuten zu erhalten waren, fing ich am Tage vor der Unterbrechung bloss 30 ccm davon in zwölf Stunden auf. Am 18. Dec. wurde der Kolben aus dem Wasserbade entfernt und mit der Analyse begonnen: Das trübe Liquidum stinkt intensiv „wie Leichenmageninhalt“, daneben nach Indol und wird zunächst zur Untersuchung, ob dieser Körper unter diesen veränderten Umständen wie an der Luft entstehen kann, in drei Flaschen vertheilt, mit gleichem Volumen Aether geschüttelt. Aus dem durch Destillation entfernten Aether erhielt ich ein wenig eines gelblichen, sauer reagirenden Liquidums (Valeriansäure?), auf welchem das Indol, etwa 0.5, als braunes Oel schwimmt.

Die heisse Lösung von 150.0 g Baryt wird, unter Beachtung der früher erwähnten Cautelen, sieben Stunden lang mit dem Eiweiss destillirt. Das salzsaure, von in der Flüssigkeit gebliebenem Indol rosenroth gefärbte Destillat macht 1900 ccm aus. In 5 ccm finden sich nach Bildung des Platinsalzes und Glühen 0.2026 Platin, entsprechend 0.02867 N oder 10.894 g für das ganze Destillat, resp. 13.23 g $NH_3$ oder 10.83 Proc. für die 122.15 g des trockenen, aschefreien Eiweisses. — Zur Trockne eingedampft und mit absolutem Alkohol ausgezogen, liess der Salmiak im Alkoholrückstand eine braune Kruste zurück, welche, mit NaHO behandelt und mit Aether geschüttelt, wiederum ein nach Collidin riechendes öliges Liquidum in minimaler Menge lieferte.

Das in der Retorte zurückgebliebene Baryumcarbonat wog, bis zum constanten Gewicht bei 110° getrocknet, 28.74 g, woraus sich 6.42 g oder 5.255 Proc. $CO_2$ berechnen lassen. Wie früher neutralisirt (40.0 g $H_2SO_4$), filtrirt und, solange nöthig, gewaschen, lieferte die vom Baryumcarbonat abfiltrirte Lauge 2400 ccm sauren Destillats, wovon 62 ccm zur Neutralisation von 20 ccm der Normalnatronlauge erforderlich waren, so dass sich 42.58 g oder 34.858 Proc. Buttersäure ergeben, oder 29.11 g Essigsäure, d. h. 23.81 Proc. des trockenen Eiweissquantums. Aus dem Destillate bildete ich die Natronsalze, und nachdem ich bis zum Beginn der Krystallisation eingedampft hatte, erstarrte eine butterweiche Masse von radiär angeordneten feinen Nadeln. Mikroskopisch konnte kein Acetat erkannt werden. Durch $H_2SO_4$ wurden die Säuren frei und bildeten 25 ccm eines öligen rothen Liquidums, welches stark nach Valeriansäure roch und mit $CaCl_2$ getrocknet ward. Die Säuren wurden dreimal einer fractionirten Destillation bei 710 mm Barometerstand unterworfen. Endlich wurden vier Fractionen erhalten:

1. Unter 160° übergehend; etwa 8 ccm werden in das Natronsalz verwandelt.
2. Zwischen 160 und 164°, circa 7.0 ccm.
3. Zwischen 165 und 168°, circa 2.5 ccm.
4. Zwischen 168 und 171°, circa 1.0 ccm.

Nr. 1 bestand hauptsächlich aus Essigsäure, wie die sehr schön ausgebildeten Krystalle mikroskopisch ergaben.

Nr. 2 wurde, wie die übrigen Fractionen, in Silbersalz verwandelt. In 0.353 g Silbersalz fand sich 0.1948 g Silber = 55.18 Proc.; die Formel des buttersauren Silbers verlangt 55.38 Proc.

Nr. 3. Von 0.2596 g Silbersalz erhielt man 0.1421 g Silber oder 54.734 Proc.

Nr. 4. In 0.1581 g Silbersalz waren 0.0827 g Silber, entsprechend 52.308 Proc. Aus der Formel der Valeriansäure werden berechnet 51.67 Proc. Silber.

So bestehen die bei der Zersetzung des Eiweisses während 29 tägigen Luftabschlusses erhaltenen Säuren aus Essigsäure und Buttersäure zu ungefähr gleichen Theilen und aus Valeriansäure in geringer Quantität, während Propionsäure hier ebenfalls nicht nachzuweisen war.

Der von $NH_3$ und Säuren befreite braune Rückstand wurde auf dem Wasserbade eingeengt und jede krystallisirende Partie nach der jeweiligen Unterbrechung für sich auf dem Filter gesammelt. Auf diese Weise erhielt ich drei Portionen einer noch gelblichen Masse; die erste wog trocken 1.342 g, die zweite 7.048 und die dritte 6.33. Die erste enthielt schon mikroskopisch nur Formen, die für Tyrosin charakteristisch sind: lange Nadeln in dünne Büschel gelagert, welche von einem gemeinsamen Punkt nach zwei entgegengesetzten Seiten hin divergiren. Doch vereinigte man die beiden ersten Portionen zur Umkrystallisation; durch Auflösen in heissem Wasser, Zusatz von $NH_3$ und Fällung mit Essigsäure bekamen wir ein schwach gelbliches Pulver (2.0 g), womit die verschiedenen qualitativen Analysen auf Tyrosin gemacht werden konnten: nach Hoffmann gab Quecksilbernitrat damit eine rosarothe Färbung der Lösung, und die Piria'sche Probe ergab nach Behandlung mit $H_2SO_4$ u. s. w. die schönste violette Färbung der Lösung. — Beim Erhitzen mit Natronkalk entwickelte sich ein deutlicher Phenolgeruch. Wir hatten also unzweifelhaft Tyrosin vor uns.

Die dritte Portion bildete, umkrystallisirt, ein schönes, weisses Pulver von Schüppchen, mikroskopisch sehr dünne, zarte sechseckige Tafeln, meist mit ungleichen Seiten und mit einander verwachsen. Die Elementaranalyse dieser Substanz zeigte, dass sie nicht Leucin, sondern Amidovaleriansäure war, wie die zwei Kohlenwasserstoff- und die N-Bestimmung zeigen:

1. 0.3933 g der Substanz lieferten 0.7374 $CO_2$ = 51.13 Proc. C und 0.3332 g $H_2O$, daraus berechnet 9.16 Proc. H.

2. 0.3542 g Substanz mit 0.0026 Asche ergab 0.6618 g $CO_2$ resp. 51.31 Proc. C und 0.2920 g $H_2O$ resp. 9.22 Proc. H.

3. 0.1255 g Substanz, aschefrei 0.1246, ergab bei 13° und 718 mm Barometerstand 13 ccm N oder 11.69 Proc. H.

Die Formel der Amidovaleriansäure verlangt aber 51.28 Proc. C, 9.40 Proc. H und 11.96 Proc. N.

Das wegen der Gewinnung dieser Substanz unberücksichtigt gebliebene, doch mikroskopisch constatirte Leucin war nur in geringer Quantität vorhanden. Von Tyrosin, Butalanin und Leucin haben wir also 14.72 g oder 12.05 Proc. vom Gesammteiweiss.

Von obigen Producten befreit, lieferte die Lauge noch durch Fällung mit absolutem Alkohol eine durch den Syrup sehr verunreinigte, trocken pechartige Masse, welche äusserst langsam über $H_2SO_4$ trocknete, sehr hygroskopisch sich verhielt und 15.5 g wog. Ich werde sie, obschon leucinhaltig, zu dem Rückstande hinzuzählen. Die noch mehrmals erfolglos in Angriff genommenen Peptone möglichst, d. h. bis zur dicken Extractconsistenz eingedampft, waren mit dem Rückstande 25.4 g schwer. Der Rückstand beträgt also in toto 40.9 g oder nach Abzug der 7.0 g Asche 33.9 g resp. 27.75 Proc. des Eiweisses.

VII. Versuch. 28. November Morgens. Dauer: 28 Tage.

Die 100.0 g Eiweiss waren 24 Stunden lang bis auf 130° getrocknet und von etwaigen Keimen befreit worden, 1500 ccm Aq. dest. und 6.0 g frisches, alkalisch reagirendes Ochsenpankreas werden Morgens nach den bekannten Vorbereitungen zugesetzt. — Am 29. Nov. früh ist das Wasser der Abflussröhre schon über dem Quecksilber befindlich. Es wurden täglich Gasproben gesammelt. Am 13. December war die Temperatur des Wasserbades bis auf 50° gestiegen, doch ging der Process ruhig weiter vor sich. Am 25. December kündigt uns ein intensiver, das ganze Laboratorium erfüllender Gestank an, dass der Kolben gesprungen ist, gerade zur Zeit, wo der einen Monat dauernde Versuch unterbrochen werden sollte, aus welchem Grunde, konnte nicht ermittelt werden.

Was vom Liquidum gerettet werden konnte, diente dazu, sich zu versichern, dass nicht mehr Indol gewonnen werden kann, wenn man die Säuren zuvor durch (100.0 g) Baryt in Lösung zu binden sucht. Nach der Extraction mit Aether erhielt ich etwa 3 ccm öliges, stark nach Indol riechendes Liquidum, jedenfalls aber unrein; denn beim Versuch, umzukrystallisiren, bildeten sich keine Krystalle, sondern eine trübe opalescirende Flüssigkeit. Rauchende Salpetersäure erzeugte aber darin, wie früher, einen reichlichen rothen Niederschlag, welcher die Anwesenheit von Indol doch constatiren liess.

Einer weiteren Behandlung unterzog ich natürlich die mit dem Wasser des Bades doch zum Theil vermischte Flüssigkeit nicht.

VIII. Versuch. 27. December Mittags. Dauer: 13 Tage.

Verwendet wurden 200.0 g Eiereiweiss oder getrocknet, aschefrei und nach Abzug der unzersetzt gebliebenen Substanz 108.25 g, 2000.0 ccm gekochtes Aq. dest. und diesmal 3.0 g der Bacterien haltenden Flüssigkeit vom Versuch VII, bei welchem die Retorte eben zwei Tage zuvor gesprungen war. Tags darauf erstreckte sich die Gasentwickelung bis in die Röhre und am 29. Dec. ist sie so stürmisch, dass sogar Eiweissstückchen die Röhre zu verstopfen drohen und mit einem Stück Draht den Gasen Platz verschafft werden muss. — Am 31. Dec. war die Flamme unter dem Wasserbade so verändert gefunden worden, dass die Temperatur auf 61° gestiegen war und die Gasblasen in äusserst kurzen Intervallen austraten, doch hörte der Process nicht auf.

Am 9. Januar 1877 wurde der Versuch unterbrochen. Das Liquidum sah gelbgrünlich, trübe aus, verbreitete einen äusserst intensiven Indolgeruch und enthielt noch ziemlich viel unzersetztes Eiweiss in Stückchen. Es wurde daher decantirt, das Eiweiss auf Leinen gebracht, dann getrocknet, um es bei der Berechnung in Abzug zu bringen; es waren 33.0 g davon. Von dem unter starkem Aufschäumen nach Barytzusatz erhaltenen salzsauren Destillat, 1200 ccm, lieferten nach zwei übereinstimmenden Analysen je 5 ccm 0.1505 g Platin, entsprechend 0.021296 g N, oder für die Gesammtquantität 5.1109 g N, resp. 6.206 g oder 5.733 Proc. $NH_3$. Was nicht zur quantitativen Bestimmung diente, behandelte ich wie gewöhnlich zur Trennung des Salmiaks. Vom Aether blieben einige Tropfen öliger, gelber, alkalischer Flüssigkeit zurück, welche nicht unangenehm riecht und jedenfalls sehr schnell $CO_2$ absorbirt hatte, da diese bei der Behandlung mit HCl brausend entweicht. Die filtrirte und eingedampfte Flüssigkeit erstarrt zu einer wachsartig krystallinischen Masse von kleinen gelben Nadeln, welche, in das Platindoppelsalz umgewandelt, einen voluminösen hellgelben Niederschlag liefert. Die mikroskopisch noch nicht reinen Nadeln müssen noch umkrystallisirt werden und erst dann erhielt ich sehr schöne, grosse, leicht gelbliche Krystallblättchen, mikroskopisch rhombische Tafeln. Getrocknet reichte die Quantität gerade noch zu einer Platinbestimmung aus:

0.0734 g Substanz gaben 0.0223 g Platin oder 30.38 Proc.

Es scheint also hier die gleiche Substanz aus Eiweiss erhalten worden zu sein, welche Nencki bis jetzt an der Luft nur bei Gelatinefäulniss fand. In der genannten Festschrift über die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei Luftzutritt hatte er in seinem Platinsalz (S. 16 l. c.) 30.17 Proc. Platin, während das Platinsalz der Collidinbase von der Formel: $(C_8H_{11}N)_2\ 2\,HCl\,PtCl_4$ 30.16 Proc. Platin verlangt.

Aus dem von $NH_3$ befreiten Retortenrückstand den $BaCO_3$ zu gewinnen, war dieses Mal eine umständlichere Arbeit; es war nämlich in der Hitze noch so viel gelöstes, unzersetztes Eiweiss coagulirt, dass dasselbe, mit dem Baryumcarbonat innig vermengt, eine Masse von Butterconsistenz auf dem Filter bildete. Nach mehrtägigem Waschen des Gemisches mit heissem Wasser wandelte ich das Baryumcarbonat in das lösliche Chlorbaryum um, filtrirte und stellte mein $BaCO_3$ durch Fällung mit Ammoniumcarbonat wieder her. Getrocknet wog das kohlensaure Baryum 23.25 g. Daraus lassen sich berechnen 5.19 g oder 4.79 Proc. $CO_2$ im Verhältniss zu der verbrauchten Eiweissmenge.

Auf dem Filter war noch unzersetztes Eiweiss, es betrug, zuerst auf Wasserbad, dann im Luftbad bis auf 110° getrocknet, 23.50 g, so dass ich mit der oben schon erhaltenen Partie 56.5 g trockenes, ungelöstes Eiweiss von den ursprünglichen 200.0 g in Abzug zu bringen habe.

Das Destillat des mit $H_2SO_4$ (45.0 g) versetzten, filtrirten und gewaschenen Rückstandes maass 3500 ccm, wovon 145.5 zur Neutralisation der 20 ccm Normalnatronlauge verwendet wurden. Hierauf berechnet man für Buttersäure 24.92 g oder 23.02 Proc., auf Essigsäure bezogen: 17.04 g oder 15.74 Proc. der Eiweissmenge.

Das aus dem Destillat durch Natronzusatz erhaltene Salz lieferte 3.63 g trockenes, krystallisirtes Natriumacetat; 0.4380 g desselben verloren bei der Analyse 0.1729

Wasser oder 39.46 Proc.; aus der Formel ergeben sich 39.70 Proc. Krystallwasser. Ferner ergab das aus dem essigsauren Salz erhaltene $Na_2SO_4$ : 0.2301 g, entsprechend 0.0745 Na, woraus sich für das Acetat 28.09 Proc. berechnen lassen; die Formel $C_2H_3O_2Na$ verlangt 28.04 Proc. Na.

Die vom Alkohol aufgenommenen fettsauren Salze lieferten nach Verjagung des Alkohols und Zersetzung durch $H_2SO_4$ 11 ccm abgeschiedener Säuren, welche nach der ersten fractionirten Destillation und dem Trocknen so reducirt waren, dass man sich begnügen musste, die Guanamine daraus darzustellen. Es wurden die Krystalle der normal buttersauren und valeriansauren Salze getrennt dargestellt, die Anwesenheit der Propionsäure war auch dadurch nicht constatirt worden.

Durch Einengen des nach Gewinnung der Säuren erhaltenen Rückstandes liessen sich 12.29 oder 11.45 Proc. noch unreines Leucin gewinnen. Mehrmals, Anfangs aus Wasser umkrystallisirt, später die letzte Krystallisation so dargestellt, dass das Leucin in möglichst wenig Wasser gelöst und mit gleichem Volumen Alkohol versetzt wurde, blieben zwei Fractionen zurück, welche jedoch beide Spuren von Asche enthielten. Unter dem Mikroskope erschienen die Krystalle als rosettenförmig gelagerte dünne Tafeln, welche sich nach dem Centrum zu schwach verjüngten; sie waren in beiden Fractionen geschmacklos. Bei der Elementaranalyse wurden folgende Zahlen erhalten:

I. Krystallisation:

0.3020 g angewandter Substanz mit 0.0032 Asche

$CO_2$ = 0.5932 g = 54.14 Proc. C
$H_2O$ = 0,2569 „ = 9.55 „ H.

II. Krystallisation:

0.3140 g Substanz mit 0.0018 g Asche

$CO_2$ = 0.6220 g = 54.32 Proc. C
$H_2O$ = 0.2735 „ = 9.73 „ H.

Leucin aber verlangt:

54.96 Proc. C und
9.92 „ H.

Es ergiebt sich hieraus, dass die Substanz rein war, und nur mit einer geringen Menge einer C-ärmeren Amidosäure, wahrscheinlich Butalanin, vermengt.

Nach Fällung des die Peptone sammt Rückstand haltenden Syrups mit Alkohol zeigte eine mit ihnen aufs Innigste vermischte faserig filzige Masse mikroskopisch Leucinkrystalle in grosser Menge; sie jedoch von den Peptonen zu trennen, war ganz unmöglich; das Gemisch wurde, soweit thunlich, d. h. bis zur dicken Extractconsistenz, eingedickt, so dass ich 63.5 g davon erhielt, oder nach Abzug der Asche 57.25 g oder 52.89 Proc. vom Gesammteiweiss.

### C. Untersuchung der bei Luftausschluss in den verschiedenen Lösungen thätigen Pankreasbacterien.

Wie ich früher andeutete, betrachtete ich meine Vorrichtung zur Herstellung des Luftabchlusses Anfangs mit etwas Misstrauen und gab mich erst damit zufrieden, als ich jede andere Construction als zu complicirt und doch unvollkommen ver-

werfen musste. Ich habe also in meinen Versuchen bei der Einführung des Pankreas den Kolben öffnen müssen, aber ich beschloss, den Apparat durch Anstellung einer Reihe von Controlversuchen zu prüfen. Sie sollten mir zugleich, in Verbindung mit den Hauptversuchen, die Gelegenheit darbieten, die Entwickelung der niederen Organismen bei Luftausschluss näher ins Auge zu fassen.

Gegen das Lüften des Pfropfens, nachdem das Liquidum durch langes Sieden frei von etwaigen Organismen erhalten worden war, konnte wohl der erste Einwand gerichtet werden, dass die Keime während des Lüftens von der Luft und nicht von dem Pankreas herrühren möchten.

Um diese Ansicht zu widerlegen, wurde, wie bei den späteren Controlversuchen, ein ganz ähnlich den früheren, nur in bedeutend verkleinertem Maassstabe eingerichteter Kolben mit gekochter und filtrirter Candiszuckerlösung (10 : 150 g) gefüllt, als eine erwiesenermaassen durch die Pankreasbacterien am schnellsten angegriffene Substanz. Nach dem Erkalten wurde der Pfropfen drei Minuten lang entfernt, dann, unter Erhaltung des vollständigen Ausschlusses der Luft im Rohre, wieder aufgesetzt. Während 10 Tagen, d. h. so lange der Kolben bei der Temperatur von 40° gelassen wurde, trat weder Gasentwickelung, noch Trübung, noch Bacterienbildung in der Lösung auf. Ganz das Gleiche ergab sich für Gelatine bei Hauptversuch V; obschon gleich behandelt wie obige, blieb sie sechs Tage lang unverändert, geruchlos, frei von jeder Gasbildung, bis ich schliesslich Pankreas zusetzte. Konnten also auch möglicher Weise bei diesem raschen Zusatz der Drüse Keime aus der Luft in den Kolben gelangen, so waren sie doch nicht im Stande, meine Lösungen zu zersetzen; Fäulniss trat nur ein, wenn ich Pankreas eingeführt hatte. Dieses Ergebniss stimmt auch mit den ausgezeichneten Resultaten von Tiegel[1]) überein, nach welchen namentlich in der Pankreasdrüse die Bacterienkeime normaler Weise vorkommen.

In zweiter Linie musste ich versuchen, ob Gasentwickelung und Zersetzung ausbleiben, wenn durch Mitkochen des Pankreas jede Entfernung des Pfropfens nach Füllung des Kolbens unnöthig würde; mit anderen Worten, ob bei vernichteten Fäulnisskeimen die Gegenwart anderer Drüsenbestandtheile in so geringer Quantität eine Zersetzung bedingen kann oder nicht.

Nach 16 Minuten heftigen Kochens einer ebenfalls schon durch Kochen bereiteten Zuckerlösung mit frischen Drüsenstückchen war das Liquidum auf die Hälfte des Volumens reducirt. Als das Vacuum durch das siedende Wasser ersetzt worden war, blieb der Kolben vom 20. November bis 2. December 1876, ohne die geringste Veränderung darzubieten; die Lösung war wasserklar, süss, enthielt keine Bacterien, mit einem Wort: bei fehlenden oder zerstörten Organismen (resp. ihrer Keime) tritt bei Luftabschluss auch keine Zersetzung ein.

Eigenthümlich verhielt es sich mit einem anderen Controlversuch: Als ich aus dem Innersten einer Drüse vom vorigen Tage ein Stück sieben Minuten lang in der Lösung mitgekocht und den Luftabschluss hergestellt hatte, war ich am anderen

---

[1]) Ueber Coccobacteria septica im gesunden Wirbelthierkörper. Virchow's Arch. 1874, 60, 453.

Morgen nicht wenig erstaunt, die Gasentwickelung in vollem Gange anzutreffen; die Drüse befand sich unten; sie war offenbar nicht lange genug mitgekocht worden, und blieben trotz der lange einwirkenden hohen Temperatur gewisse Formen lebensfähig. Nach neun Tagen, als die Gasentwickelung fast gänzlich aufgehört hatte, wurde die Flüssigkeit mikroskopisch untersucht. Der Befund schien mir so interessant, dass ich eine Zeichnung dieser hier so homogen aufgetretenen Gebilde entworfen habe (s. Fig. III). Zur Untersuchung wurde eine Immersionslinse Obj. VII mit Ocular III von Seibert verwendet. Herrn Prof. Dr. Valentin, welcher mir dieses Mikroskop bereitwilligst zur Verfügung stellte, spreche ich hier meinen besten Dank aus.

Es sind reine, helle Stäbchenformen von kaum 0.56 Mikrom. Breite, meistens 4 bis 8 Mikrom. Länge, welche einzeln selbständige, schlängelnde Bewegungen nach vor- und rückwärts ausführen, indem sie sich bisweilen schwach krümmen; doch waren die meisten mit einander, entsprechend der Längsaxe, zu geraden, krummen, zickzack- oder treppenartigen Ketten von zwei bis zwölf und mehr Gliedern verbunden, welche langsam und wie ein Stück mit dem Strome der Flüssigkeit zu gehen schienen. Ich glaube hiermit die Desmobacterienform Bacillus subtilis Cohn oder das Buttersäureferment Pasteur's[1]) aus dem Pankreas von anderen Arten isolirt zu haben und zwar bei vollkommenem Luftabschluss.

Die zersetzte Zuckerlösung, in welcher die Bacillen entstanden, war leicht trübe und entwickelte einen deutlichen Geruch nach Buttersäure.

Es ist mir im Laufe dieser Untersuchungen aufgefallen, dass ich die Sporenbildung des Bacillus constant in allen meinen Eiweiss- und Gelatinelösungen, wie Nencki bei Luftzutritt, so vorherrschend fand, dass diese Köpfchengebilde den weitaus grössten Theil des Gesichtsfeldes einnehmen (Fig. I), während sie in analogen Versuchen mit weissem Candiszucker und Milchzucker nie auftreten. Bei den am längsten dauernden Versuchen mit Eiweiss und Gelatine fanden sich viele Sporen isolirt oft zu ganzen Haufen vereinigt, die Fäden mit einzelnen derselben noch in Zusammenhang, aber wie abgebrochen, äusserst zart und durchsichtig; andere enthielten noch mehrere dieser Sporen (Coccos in Bacteria, Billroth), welche offenbar aus dem concentrirten Protoplasma der Stäbchen hervorgegangen waren. Von solchen Bacillen mit Dauersporen spricht schon Cohn l. c. **1**, 176, dann später noch **2**, 2. Heft. Mit seiner im ersten Bande gegebenen Abbildung (Taf. III) dieser unter ganz anderen Verhältnissen beobachteten Gebilde stimmt die meinige ziemlich überein.

Bemerken will ich noch, dass diese Bacillen mit ihren Köpfchen, besser Sporen, nach zweistündigem Schütteln der zersetzten Eiweisslösung mit Aether (Versuch VI, behufs Gewinnung des Indols) ihr Aussehen vollkommen bewahrt hatten und noch mehrere Tage nachher gleich beweglich gefunden wurden. Von manchen wird angenommen, dass das starke Lichtbrechungsvermögen der Köpfchen dieser Bacterien durch einen Fettgehalt bedingt sei; von einer Entfernung dieses hypothetischen Fettes durch Schütteln mit Aether war also hier nichts zu bemerken.

---

[1]) Cohn, Beiträge zur Biol. der Pflanzen **1**, 175, 1875.

Um auf die Bacterien der Zuckerlösungen zurückzukommen, muss ich vorausschicken, dass ich eine Reihe von sieben Hauptversuchen mit feinstem weissen Candis- und Milchzucker gleichzeitig mit den eben behandelten vorgenommen habe. Sie sind in der gleichen Vorrichtung wie für Eiweiss und Gelatine bei Luftausschluss ausgeführt worden; auch die Lösungsverhältnisse waren die gleichen, nur ergab sich, dass ich schon bei der Beschickung des Kolbens für die Neutralisation der nach und nach gebildeten Säuren sorgen musste, was durch Kochen von $CaCO_3$ mit der Lösung erreicht wurde. Der Process scheint, obgleich früh beginnend und Anfangs sehr stürmisch, in den späteren Zeiten ebenso wie bei Eiweiss und Gelatine langsam zu verlaufen. Ich muss hier von der Aufzählung der in dieser Richtung hin angestellten Versuche mit der Analyse der Producte abstrahiren. Es sei nur erwähnt, dass ich jeweilen bei totaler Abwesenheit von Hefe durch Destillation eine alkoholisch riechende farblose Flüssigkeit erhielt, welche, mit Jod und Alkali behandelt, die sechseckigen Tafeln des Jodoforms lieferte. Ich bin geneigt, die bald erlahmende Thätigkeit der organisirten Pankreasfermente in Zuckerlösungen auch der zunehmenden Bildung von Alkohol zuzuschreiben. Aus beiden Zuckerarten erhielt ich geringe Mengen von Milchsäure, und zwar Gährungsmilchsäure, und von normaler Buttersäure.

Um so interessanter sind die hier aufgetretenen Organismen; sie wurden zur Vergleichung mit denjenigen der Proteïnstoffe in Fig. II abgebildet, wie sie aus ganz frischem Pankreas nach sechstägigem Aufenthalt in reiner Candiszuckerlösung ohne Kalkzusatz entstanden. Die anfänglich sehr starke Gasentwickelung, wobei Wasserstoffgas frei wurde, hatte nach dieser Zeit total aufgehört, doch waren die sich senkenden Organismen, welche man, beiläufig gesagt, leicht auf einem Filter sammeln konnte, noch beweglich.

Sie bestehen hauptsächlich aus sehr langen, vielfach gewundenen oder, besser gesagt, gekräuselten, rosenkranzähnlichen Ketten von Meso- und Megacoccos (0.5 bis 1.1 Mikrom.), welche oft einen Uebergang in die Stäbchenform darbieten, daher zuweilen eigentlich Streptobacterienketten repräsentiren. Die ersterwähnten Ketten liessen sich wohl am besten nach Cohn als Torulaform bezeichnen, obschon die eigenthümliche ruckweise Bewegung, welche jeweilen ein ganzer Abschnitt der Kette, oder aber mehrere Individuen derselben, wie um ein Gelenk vornehmen, ihre Classification unter die Kugelbacterien vielleicht nicht gestattet.

Eigenthümlicher Weise habe ich diese Form von Organismen in mehreren frischen Eiterflüssigkeiten in sehr zahlreicher Menge (aber nicht so lange Ketten bildend) vorgefunden, welche, oft vollständig geruchlos, längere Zeit im Körper verweilt hatten und schliesslich durch Punction entleert wurden; sie hatten sich ebenfalls bei Luftabschluss entwickelt.

Eine weitere Ausbildung der Ketten in reinen Zuckerlösungen wird durch die immer saurer werdende Reaction schliesslich verhindert, doch in frische Zuckerlösungen gebracht (Controlversuch), verändern sie sich insoweit, dass die Coccos zu dicken, aber kurzen Bacterien werden, die Coccoskette zu einer Bacterienkette von einzelnen breiten Stäbchen. Was aus diesen wird, konnte nicht verfolgt werden.

Bei Cohn[1]) habe ich eine wenigstens ähnliche Zeichnung finden können, doch hat sie Verzweigungen, welche bei meinen Versuchen nie zu beobachten waren. Gleichzeitig fanden sich einige wenige leptothrixartige zarte Fäden, nach Cohn also noch ungegliederte Bacillusformen, doch nie mit Sporen.

Dieses wesentlich verschiedene Verhalten der Bacillen in meinen Medien führt mich zu dem Resultat, dass diese Gebilde bei Luftausschluss erst in N-haltigen Substanzen zu ihrer vollständigen Entwickelung gelangen. Finden sich diese Stoffe in reichlichem Maasse vor, so gedeihen auch die Bacillen am besten, sie bringen es nach einer gewissen Zeit bis zur Bildung von Sporen, während sie in Zuckerlösungen unter sonst gleichen Verhältnissen auf der Stufe der Stäbchenform verharren und sich höchstens durch Theilung vermehren.

Hiernach (ich setze mit Cohn voraus, dass nur die Bacillen bis jetzt diese Sporenbildung aufweisen) würde nicht, entgegen der in den Beiträgen zur Biologie der Pflanzen, Bd. II, ausgesprochenen Ansicht, im ungehinderten Zutritt der Luft zu den Ernährungsflüssigkeiten, sondern in der Qualität der letzteren das für Wachsthum und Sporenbildung der Köpfchenbacterien bedingende Moment zu suchen sein. Bei Luftzutritt dagegen wird bedeutend schneller ihre zersetzende Thätigkeit auf diese Substanzen ausgeübt.

## Zusammenstellung und Vergleichung der Fäulnissproducte an der Luft und bei Luftabschluss.

Von den bei diesen Versuchen auftretenden Gasen habe ich bis jetzt absichtlich nur andeutungsweise gesprochen, weil ich es für gerathener hielt, beide Substanzen in dieser Beziehung mit einander zu vergleichen. Es sind zwar genaue Analysen der bei der Fäulniss von Fibrin entstehenden Gase von Hüfner[2]) gemacht worden, zur Vergleichung mit denjenigen, welche in Folge der Einwirkung des ungeformten Pankreasferments auftreten sollten. Er fand im ersten Fall $CO_2$, N und H, neben Spuren von stinkenden Gasen; bei Ausschluss sämmtlicher Organismen aber nur $CO_2$, welche dagegen nicht der Einwirkung des Fermentes zuzuschreiben ist, sondern der Diffusion der Gase, da bei möglichstem Luftabschluss nur Spuren davon entstehen. Ferner hat Kunkel[3]) grössere Quantitäten Bauchspeicheldrüse auf Fibrin einwirken lassen, so dass sich die Gasanalysen auf Fibrin und Drüseneiweiss zugleich beziehen. Er fand $CO_2$, H, $H_2S.CH_4$ und N. Gréhant[4]) kam zu ähnlichen Resultaten für Blutfibrin. Von Analysen der Gase, welche bei der Zersetzung von Eiereiweiss oder Gelatine entwickelt werden, habe ich nichts finden können; deshalb habe ich mich auch entschlossen, das Wenige mitzutheilen, welches hier beobachtet wurde. Ich habe mich leider darauf beschränken müssen, die Menge der durch KHO absorbirbaren und nicht absorbirbaren Gase zu bestimmen, wobei das von Tag zu Tag wechselnde Verhältniss besonders klar zur Anschauung kommt.

[1]) Cohn, Biol. der Pflanz., I, Taf. III, Fig. 5.
[2]) Journ. f. prakt. Chemie 11, 55.
[3]) Verhdlg. d. phys.-med. Ges. Würzburg, N. F., S. 134.
[4]) Gazette méd. 1874.

Das im Eudiometer aufgefangene Gas liess man etwa zwei Stunden über Quecksilber der Zimmertemperatur ausgesetzt, dann brachte man ein Stück frisches KHO in die Röhre; sofort stieg das Quecksilber; am folgenden Tage wurde abgelesen und berechnet. Das Kali war gewöhnlich rosaroth gefärbt; durch eine Säure wurde daraus die $CO_2$ mit den stinkenden Gasen in Freiheit gesetzt. Beim Eiweiss war der Geruch derselben vorzüglich derjenige von reinem $H_2S$, bei der Gelatine dagegen ähnlich dem $CS_2$.

Während bei der Eiweissfäulniss Wasserstoff durch Verpuffen der austretenden Gasblasen, wie der nicht absorbirten Eudiometermengen nachgewiesen werden konnte, fehlte diese Erscheinung total bei der Gelatinefäulniss.

Wenn die Werthe für die Gasproben der Gelatine viel gleichmässiger ausfielen als für das Eiweiss, so hängt dies davon ab, dass die Gelatine sich vollständig gelöst befand, das Eiweiss dagegen erst allmählich und unregelmässig zur Lösung kam. Wo für die letzte Substanz Schwankungen in den Zahlen vorkommen, war der Kolben etwas geschüttelt worden; später wurden eben dieses nöthigen Umstandes wegen keine Proben mehr aufgefangen.

## Gase der Gelatinefäulniss.

Versuch V, 27. December.

| Datum | Aufgefangen (in ccm) | Nicht absorbirt (in ccm) | Absorbirt (in Procent) | Nicht absorbirt (in Procent) | Tag der Gasentwickelung |
|---|---|---|---|---|---|
| Januar 2. | 41.0 | 2.0 | 95.12 | 4.88 | II. |
| 3. | 62.5 | 1.5 | 97.60 | 2.40 | III. |
| 4. | 52.5 | 1.0 | 98.09 | 1.91 | IV. |
| 5. | 60.0 | 1.0 | 98.33 | 1.67 | V. |
| 6. | — | — | — | — | VI. |
| 7. | 45.0 | 0.5 | 98.80 | 1.20 | VII. |

Die folgenden Proben durch KHO vollständig absorbirt.

Zu dieser Tabelle ist zu bemerken, dass bei der Gelatine die ersten Gasproben erst vom 4. oder 5. Tage hinweg gesammelt werden konnten, weil die Entwickelung zum Auffangen hinreichender Mengen viel später erfolgte, als bei den Eiweissversuchen. Ausser dieser einen Untersuchung für Gelatine wurden mehrere andere mit gleichem Resultate vorgenommen (s. nebenstehende Tabelle).

Ich glaube hier erwähnen zu müssen, dass auch in Versuch VIII, in welchem keine Drüse, sondern nur Bacterienflüssigkeit zur Einleitung der Zersetzung diente, die Gasentwickelung, wie in den früheren Versuchen, in den ersten 24 Stunden erfolgte. Die Zusammensetzung der Gase verhielt sich ferner so, dass z. B. am dritten Tage 16.09 Proc. absorbirter Gase auf 83.91 Proc. nicht absorbirter kamen, am achten aber das Verhältniss sich schon so umkehrte, dass 80.64 Proc. absorbirten und nur 19.36 Proc. nicht absorbirten, verpuffenden Gases gefunden wurden.

## Gase der Eiweissfäulniss.

Versuch VI, 20. November.

| Datum | Aufgefangen | Nicht absorbirt | Absorbirt | Nicht absorbirt | Tag der Gasentwickelung |
|---|---|---|---|---|---|
| | in ccm | | in Procent | | |
| Novbr. 22. | 34.0 | 9.0 | 73.53 | 26.47 | II. |
| 23. | 34.0 | 6.5 | 80.88 | 19.12 | III. |
| 24. | 44.0 | 7.0 | 84.09 | 15.91 | IV. |
| 25. | — | -- | — | — | V. |
| 26. | 20.5 | 3.0 | 85.36 | 14.64 | VI. |
| 27. | 18.5 | 0.5 | 97.30 | 2.70 | VII. |
| 28. | 39.0 | 2.0 | 94.87 | 5.13 | VIII. |
| 29. | 46.0 | 3.0 | 93.48 | 6.52 | IX. |
| 30. | — | — | — | — | X. |
| Decbr. 1. | 34.0 | 2.0 | 94.12 | 5.88 | XI. |
| 2. | 25.5 | 1.0 | 96.08 | 3.92 | XII. |
| 3. | 40.0 | 1.0 | 97.50 | 2.50 | XIII. |

Versuch VII, 28. November.

| Datum | Aufgefangen | Nicht absorbirt | Absorbirt | Nicht absorbirt | Tag der Gasentwickelung |
|---|---|---|---|---|---|
| | in ccm | | in Procent | | |
| Novbr. 29. | 85.0 | 58.5 | 31.17 | 68.83 | I. |
| 30. | 67.0 | 26.0 | 61.19 | 38.81 | II. |
| Decbr. 1. | 41.5 | 5.5 | 86.77 | 13.23 | III. |
| 2. | — | .. | — | — | IV. |
| 3. | 51.5 | 6.0 | 68.93 | 31.07 | V. |
| 4. | 44.5 | 4.5 | 89.89 | 10.12 | VI. |
| 5. | 62.0 | 7.5 | 87.00 | 12.10 | VII. |
| 6. | 90.0 | 7.0 | 92.22 | 7.78 | VIII. |
| 7. 8. | 60.0 | 4.5 | 92.50 | 7.50 | IX. X. |
| 9. 10. | 71.0 | 3.0 | 97.77 | 4.23 | XI. XII. |
| 11. 12. | 71.5 | 2.0 | 97.20 | 2.80 | XIII. XIV. |

Mehr Zahlen anzuführen, scheint mir überflüssig; die procentische Zusammensetzung ergiebt einen recht charakteristischen Unterschied zwischen beiden Substanzen. Bei der Zersetzung von Eiweiss treten $CO_2$ und H auf, bei der Gelatinefäulniss schon im Beginn fast nur $CO_2$, daneben wahrscheinlich etwas N, aber kein H-Gas.

Stinkende Gase kommen bei beiden Processen regelmässig, doch nicht gleich Anfangs vor. In beiden Fällen nimmt das Volumen der $CO_2$ täglich zu, dafür die durch KHO nicht absorbirbaren, theils brennbaren, theils indifferenten Gase ab.

Mit Rücksicht auf die Resultate dieser Gasuntersuchungen für N-haltige Körper, welche der Fäulniss unter Luftabschluss anheimfallen, ist, glaube ich, erwiesen, dass die in so reichlichem Maasse auftretende $CO_2$ als ein durch die Fäulniss, durch die Einwirkung der geformten Fermente auf diese Substanzen entstehendes Zersetzungsproduct anzusehen ist, da einerseits eine Gasdiffusion hier nicht möglich ist, andererseits Hüfner nachgewiesen hat, dass durch ungeformtes Pankreasferment allein keine $CO_2$-Bildung bedingt wird.

Es ist mithin in höchstem Grade wahrscheinlich, dass die in den sauerstofffreien Darmgasen reichlich vorhandene $CO_2$ und der Wasserstoff der Zersetzung von Eiweisskörpern und Kohlenhydraten durch die daselbst immer thätigen Bacterien zuzuschreiben ist, während aus den leimgebenden Stoffen kein H im Darme entsteht.

In Folgendem gebe ich noch eine Uebersicht der übrigen Producte der Gelatine und des Eiweisses mit Zusammenstellung der in den verschiedenen Versuchsreihen erhaltenen Werthe. Die Classification erfolgt vor Allem nach der Dauer jedes einzelnen Versuches, und sind die erhaltenen Werthe in Grammen und in Procenten der trockenen, aschefreien Substanzen angegeben.

Producte der Gelatinefäulniss.

| | II. Versuch nach 11 Tagen | | V. Versuch nach 16 Tagen | | III. Versuch nach 19 Tagen | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $NH_3$ . . . . . . | 9.83 g | 5.99 Proc. | 10.65 g | 8.63 Proc. | 9.82 g | 10.68 Proc. |
| $CO_2$ . . . . . . | 17.06 | 10.39 „ | 9.56 | 7.74 „ | 5.27 | 6.38 „ |
| Buttersäure . . . | 55.75 | 33.93 „ | 43.66 | 35.37 „ | 26.15 | 31.67 „ |
| Glycocoll . . . . | 5.54 | 3.37 „ | 2.50 | 2.03 „ | 7.33 | 8.88 „ |
| Isolirte Producte . | 88.14 g | 53.68 Proc. | 66.37 g | 53.77 Proc. | 48.57 g | 57.61 Proc. |
| | für 164.27 g | | für 123.43 g | | für 82.58 g | |

In erster Linie fällt auch hier gleich auf, dass die Menge des $NH_3$ proportional mit der Dauer des Versuchs zunimmt, gleichzeitig aber diejenige der $CO_2$ abnimmt. Wie sich aus den Tabellen für die Gase ergiebt, bieten diese Producte daselbst gerade das entgegengesetzte Verhalten dar; die frei werdende $CO_2$ nimmt täglich auf Kosten der nicht durch KHO absorbirbaren Gase zu.

Doch bleibt die Menge der erhaltenen $CO_2$ und des $NH_3$ durch alle Versuche hindurch die gleiche und beträgt durchschnittlich 16.60 Proc. der trockenen, aschefreien Gelatine.

Bezüglich der Fettsäuren und des Glycocolls stösst man hier auf einige Unregelmässigkeit, obschon die Tendenz einer Zunahme der Fettsäuren mit der vollständigeren Zersetzung nicht zu verkennen ist. Von ihnen sind, als bei Luftabschluss

gebildet, mit Sicherheit wieder Essigsäure, Buttersäure und Valeriansäure nachgewiesen worden; doch sind ihre Mengen so gering, dass die Versuche in grösserem Maassstabe vorgenommen werden müssen, um ihre absoluten Mengen einzeln bestimmen zu können.

Das Glycocoll ist ebenfalls ein Product der Gelatinefäulniss bei Luftabschluss. Auffallend ist die grosse Menge des Glycocolls in Versuch III, wo ich nach 19 Tagen, ungefähr wie bei Luftzutritt nach 5 Tagen, 8.88 Proc. davon erhielt.

Als bei der Gelatinefäulniss noch nicht isolirtes Product fand sich unter den gegebenen Bedingungen einmal Leucin vor (Versuch II). Bei Luftzutritt war dies nie der Fall; schon nach 17 Stunden fand Nencki (l. c. S. 10. — Dieser Band S. 189) kein Leucin mehr, während es bei Ausschluss der Luft noch nach 11 Tagen constatirt wurde, später aber nicht mehr.

Während Indol ebenso wenig wie bei Luftzutritt aus Gelatine entsteht, ist wieder eine der Collidinbase analog sich verhaltende Substanz isolirt worden, deren minimale Ausbeute aber hier keine Analyse zuliess.

Noch möchte ich bemerken, dass nach Eindampfen des die fettsauren Salze enthaltenden Destillats der höchst widerwärtige Geruch der von Dr. Brieger aus den menschlichen Fäces isolirten Substanz bemerkbar wurde.

Eine gewisse Uebereinstimmung der Zahlen zeigen je ein Versuch an der Luft und bei Abwesenheit derselben, bei der Vergleichung der erhaltenen Werthe mit einander. Sie ist um so bemerkenswerther, als hier nur ganz geringe Quantitäten Pankreas genommen wurden und auch zu jedem Versuch nur die Hälfte bis ein Fünftel der Gelatinemenge zur Verwendung kam:

| Luftzutritt (Vers. IV) nach 5 Tagen, Nencki S. 13 (Dieser Band S. 192) | | Luftausschluss (Vers. III) nach 19 Tagen |
|---|---|---|
| 9.10 Proc. | $NH_3$ | 10.67 Proc. |
| 4.60 „ | $CO_2$ | 6.38 „ |
| 28.50 „ | Buttersäure | 31.67 „ |
| 9.13 „ | Glycocoll | 8.88 „ |
| Aus 432.0 g | | Aus 82.58 g |

trockener, aschefreier Gelatine.

Stände uns eine noch grössere Auswahl von Versuchen verschiedener Dauer zu Gebote, so würden sich gewiss noch besser übereinstimmende Zahlen zur Vergleichung finden lassen; doch genügt dieses Beispiel, in Verbindung mit den oben erörterten Thatsachen, vollkommen, um den Schluss zu rechtfertigen, dass bei verhindertem Luftzutritt der Fäulnissprocess der Gelatine viel langsamer vor sich geht, als an der Luft. Wiederholte Untersuchungen werden auf diese Weise eine bessere Einsicht in diese complicirten Vorgänge gestatten.

Was die Eiweissversuche betrifft, so begegnet man bei Anstellung genauer quantitativer Bestimmungen um so grösseren Schwierigkeiten, je kürzere Zeit die Einwirkung des organisirten Fermentes auf das Eiweissquantum dauert, weil die Trennung der noch unzersetzten, aber gelösten Eiweissmengen von den secundären Producten schwieriger wird.

Producte der Eiweissfäulniss.

| VIII. Versuch nach 13 Tagen | | | VI. Versuch nach 29 Tagen | |
|---|---|---|---|---|
| 6.21 g | 5.73 Proc. | $NH_3$ | 13.23 g | 10.83 Proc. |
| 5.19 | 4.79 „ | $CO_2$ | 6.42 | 5.26 „ |
| 24.92 | 23.02 „ | Buttersäure | 42.58 | 34.86 „ |
| 12.29 | 11.45 „ | Leucin, Tyrosin, Butalanin | 14.72 | 12.05 „ |
| 57.25 | 52.89 „ | Rückstand | 33.90 | 27.75 „ |
| 105.86 g | 97.88 Proc. | Isolirte Producte für Eiweiss, trocken und aschefrei | 110.85 g | 90.75 Proc. |
| von 108.25 g | | | von 122.15 g | |

Aus diesen Versuchen über Fäulniss von Eiereiweiss ergeben sich, gegenüber den entsprechenden bei Luftzutritt, nur geringe Unterschiede bezüglich der Quantität der gewonnenen Producte, wie untenstehende Tabelle zeigt. Hinsichtlich ihrer Qualität dagegen sind einige Ergänzungen zu machen, doch bleibt, wie bei der Gelatine, die Hauptsache die, dass der ganze Process bedeutend in die Länge gezogen wird.

| Luftzutritt (Vers. II) nach 8 Tagen, Nencki S. 22 (Dieser Band S. 200) | | Luftausschluss (Vers. VI) nach 29 Tagen |
|---|---|---|
| 11.00 Proc. | $NH_3$ | 10.83 Proc. |
| 5.37 „ | $CO_2$ | 5.26 „ |
| 32.65 „ | Buttersäure | 34.86 „ |
| 3.55 „ | Leucin u. s. w. | 12.05 „ |
| Aus 175.0 g | trockenes, aschefreies Eiweiss. | Aus 122.11 g |

Kohlensäure, Ammoniak, flüchtige Fettsäuren sind auch hier constante Producte: mehr als $^2/_3$ derselben bestehen am Ende der Zersetzung aus Essigsäure und Buttersäure zu gleichen Theilen und kaum $^1/_3$ aus Valeriansäure. In früheren Stadien ist ebenfalls die Anwesenheit aller drei Säuren constatirt, und zwar während bloss Bacterien und keine Pankreassubstanz ihre Wirkung entfalteten.

Interessant ist das Auftreten der Amidovaleriansäure in Versuch VI; sie wurde bisher von Gorup-Besanez[1]) aus dem Ochsenpankreas isolirt, scheint also nach jetzigem Befunde neben Leucin als Fäulnissproduct des Eiweisses aufzutreten und ist vielleicht früher wegen seines ziemlich ähnlichen Verhaltens häufig für Leucin gehalten worden. Letzthin fand sie auch Schützenberger[2]) unter den Spaltungsproducten des Eiweisses durch Barythydrat.

[1]) Kolbe, Org. Chemie 1, 880.
[2]) Bulletin de la société chim. 1875.

Auch Tyrosin ist im gleichen Versuch dargestellt worden, aber trotz seiner Bildung haben wir gleichwohl Indol bekommen und zwar in ziemlich gleicher Quantität, wie es bei Luftzutritt (Nencki) der Fall war. Versuch VII lehrt, dass es zu seiner Gewinnung nicht von Vortheil ist, die Säuren vor der Extraction mit Aether an Baryt zu fixiren.

Einmal erhielt ich merkwürdiger Weise (Versuch VIII) die sonst aus der Gelatine gewonnene Base, deren Zusammensetzung, nach der Platinbestimmung zu urtheilen, mit der collidinähnlichen, welche sonst bei Luftzutritt aus der Gelatine von Nencki zuerst dargestellt wurde, übereinstimmt.

Schon aus der Betrachtung dieser Zersetzungsproducte allein ergiebt sich, vielleicht in noch prägnanterer Weise als bei der Gelatine, das langsamere Fortschreiten der Fäulniss, der Zersetzung durch die geformten Fermente, bei Luftausschluss.

Fassen wir in Kürze die Hauptpunkte dieser Arbeit zusammen, so gelangen wir zu folgenden Resultaten:

1. Die Zersetzung N-haltiger Substanzen und der Kohlenhydrate durch die Bacterien des Pankreas ist ebensowohl bei Luftausschluss, wie an der Luft möglich.

2. Doch schreitet der Process ganz bedeutend langsamer vorwärts; eine vollständige Zersetzung nimmt ungefähr sechsmal so viel Zeit in Anspruch bei Ausschluss der Luft, als bei freiem Zutritt derselben.

3. Die gebildeten einfacheren chemischen Verbindungen sind in beiden Fällen die gleichen. Auch in quantitativer Beziehung ist der Unterschied gering. Interessant ist das Auftreten von Tyrosin aus Eiweiss nach 29 tägiger, und von Leucin aus Gelatine nach 11 tägiger Einwirkung. Bei so langer Fäulniss an der Luft wurden diese Substanzen nicht mehr erhalten. Es ist dies ein weiterer Beweis, dass bei Luftausschluss die Oxydationsvorgänge viel schwächer sind.

4. Bei der Gelatinefäulniss entstehen nur minimale Mengen durch KOH nicht absorbirbarer Gase.

5. Die Menge der $CO_2$ nimmt unter den gasförmigen Producten des Eiweisses und der Gelatine täglich zu.

6. Die Pankreasbacterien sind Anaërobien, d. h. sie können sich unter Umständen ohne Luft entwickeln und weiter existiren.

7. Zur vollständigen Entwickelung der sog. Köpfchenbacterien ist der Luftzutritt gar nicht nothwendig, wohl aber die Gegenwart stickstoffhaltiger Substanzen; in reinen Zuckerlösungen entstehen sie aus den Pankreaskeimen nicht.

Nencki's physiolog.-chem. Laboratorium in Bern.

Erklärung der Tafel.

Fig. I. Köpfchenbacterien, Entwickelungsstufe des Bacillus subtilis Cohn, nach 29 tägiger Zersetzung von Eiweiss durch Pankreas bei Luftausschluss (Versuch VI).

Fig. II. In Form von Torulaketten Cohn, angeordnete Meso- und Megacoccos aus einer Rohrzuckerlösung nach 6 tägiger Zersetzung durch Pankreas bei Luftausschluss.

Fig. III. Bacillus subtilis Cohn, ohne Sporen, isolirt entstanden nach Kochen von einen Tag altem Pankreas in einer Rohrzuckerlösung bei Luftausschluss.

Seibert's Immersionssystem, Obj. VII, Ocular III. Vergrösserung 1150.

---

# Zur Kenntniss der Leucine

von

**M. Nencki.**

J. pr. Ch. **15**, 390.

In meiner Abhandlung über die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas[1]) habe ich eines Versuches erwähnt, wo nach 14 tägiger Digestion von 200 g käuflichen Eiereiweisses mit 100 g frischen Ochsenpankreas eine Substanz erhalten wurde, deren Zusammensetzung und Verhalten gegen Reagentien sie als Leucin kennzeichneten, die jedoch in ihren sonstigen Eigenschaften in mancher Hinsicht von dem gewöhnlichen Leucin, wie es verschiedene Autoren beschreiben, abwich. Ich habe seither mehrere Versuche angestellt, um die Bedingungen zu erforschen, unter denen das neue Leucin entsteht, habe es jedoch bis jetzt nur bei der pankreatischen Fäulniss erhalten können und zwar auf folgende Weise: 4 bis 5 Stück frisches, von Fett und Bindegewebe herauspräparirtes und fein zerhacktes Ochsenpankreas, im Ganzen also etwa 1500 g Drüsensubstanz, werden in einem Topfe mit 5 Liter Wasser übergossen und so lange bei 40° auf dem Wasserbade digerirt, bis die Anfangs saure Reaction der Flüssigkeit neutral oder schwach alkalisch wird, was meistens nach zweimal 24 Stunden geschieht. Hierauf wird die Flüssigkeit von den unverdauten Drüsenstückchen durch ein Eisendrahtnetz filtrirt und zur Entfernung des Ammoniaks mit 300 g krystallisirten Aetzbaryts destillirt. Der in dem filtrirten Retortenrückstande gelöste Baryt wurde mit Schwefelsäure vollkommen ausgefällt und die schwefelsaure Flüssigkeit zur Entfernung der flüchtigen Fettsäuren von Neuem destillirt. Aus dem Retortenrückstande wird die Schwefelsäure zum grössten Theile durch kohlensaures Baryum entfernt, jedoch so, dass das Filtrat noch

[1]) M. Nencki, Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas. Bern 1876. In Commissionsverlag bei J. Dalp. — Dieser Band S. 181.

schwach sauer reagirt und die Flüssigkeit auf dem Wasserbade eingedampft. Bei hinreichender Concentration krystallisirt dieses neue Leucin zuerst aus. Man lässt erkalten und filtrirt nach 24 stündigem Stehen die abgeschiedenen Krystalle von der Mutterlauge (A) ab. Zu weiterer Reinigung habe ich die Krystalle zunächst von der Lauge abgepresst und auf Fliesspapier getrocknet, sodann dreimal aus heissem Wasser umkrystallisirt und zuletzt in möglichst wenig heissem Wasser gelöst, filtrirt und mit dem gleichen Volumen absoluten Alkohols gefällt. Die abgeschiedenen Krystalle waren schneeweiss und aschefrei. Unter dem Mikroskope erscheinen sie als meistens concentrisch angeordnete, biegsame Nadeln oder mehr flache rhombische Tafeln. Ueber $SO_4H_2$ getrocknet, ergab dieses Präparat bei der Elementaranalyse folgende Zahlen:

0.2089 g der Substanz gaben 0.4220 g $CO_2$ und 0.1922 g $H_2O$ oder in Procenten gefunden 55.09 Proc. C und 10.22 H. Leucin verlangt 54.96 Proc. C und 9.92 Proc. H.

Der Rest dieses analysirten Präparates wurde in heissem Wasser gelöst und die Lösung so weit eingekocht, bis ein Theil der Substanz auskrystallisirte. Hierauf liess ich erkalten und bestimmte in der nach 24 stündigem Stehen abfiltrirten Lösung den Gehalt an Leucin. In 4.2952 g der Lösung bei 14.5° waren 0.0985 g Leucin gelöst. Ein Theil dieses Leucins bedarf demnach 43.6 Theile kalten Wassers zur Lösung. Wie schon früher erwähnt, hat dieses Leucin einen schwach, aber deutlich süssen Geschmack. Im trockenen Reagensröhrchen erhitzt, schmilzt es nicht, sondern sublimirt in dichten, baumwollenartigen Flocken. Gleichzeitig entstehen nach Amylamin riechende Dämpfe. Im Capillarröhrchen im $SO_4H_2$-Bade erhitzt, schmilzt es nicht, sondern bei etwa 210° sublimirt es zum grössten Theil und hinterlässt einen ganz geringen braunen Rückstand. H. Zollikofer[1]), der das Leucin aus der elastischen Faser durch Kochen mit Schwefelsäure darstellte, und der von den meisten Autoren am genauesten dessen Eigenschaften beschreibt, giebt an, dass sein Leucin in rhombischen, concentrisch angeordneten Tafeln krystallisirte, geruch- und geschmacklos war, in circa 27 Theilen kalten Wassers und in 1040 Theilen kalten, 96 procentigen Alkohols sich löste, im Oelbade bei 212° sublimirte, sodann sich bräunte, jedoch ohne zu schmelzen. Man ersieht, dass die verschiedene Löslichkeit in Wasser und der süsse Geschmack die Hauptunterschiede dieser beiden isomeren Leucine sind.

Cahours[2]) und später Hüfner[3]) haben aus Bromcapronsäure und Ammoniak Leucin synthetisch dargestellt. Mit dem von Zollikofer aus elastischem Gewebe dargestellten scheint das so von Hüfner erhaltene Leucin identisch zu sein, da es sich ebenfalls in 27 Theilen kalten Wassers löste. Hüfner verwendete dazu durch Gährung gewonnene Capronsäure, also wahrscheinlich Isobutylessigsäure. Am gleichen Ort bemerkt übrigens Hüfner, dass das aus Valeraldehyd durch Behandlung mit Blausäure und Salzsäure entstehende Leucin nach Kolbe's Erfahrungen mit jenem nicht identisch, sondern nur isomer ist.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **82**, 176.
[2]) Ann. Chem. Pharm. Suppl. **2**, 78.
[3]) Zeitschrift f. Chem. 1868, S. 616.

Das Filtrat von dieser ersten Krystallisation (A) wurde auf dem Wasserbade bis zu dickem Syrup eingedampft, wobei eine neue Krystallisation erfolgte. Die abfiltrirten Krystalle wurden genau wie die ersten gereinigt, hatten auch die gleiche Löslichkeit und den gleichen Geschmack. Die Elementaranalyse des aschefreien Körpers jedoch zeigte, dass er nicht mehr reines Leucin war, sondern dass ihm bereits eine kohlenstoffärmere Amidosäure, wahrscheinlich Amidovaleriansäure, beigemischt war.

0.1923 g der Substanz gaben 0.3821 g $CO_2$ und 0.1762 g $H_2O$ oder 54.19 Proc. C und 10.17 Proc. H.

Das Filtrat von dieser zweiten Krystallisation wurde direct mit absolutem Alkohol gefällt und der erhaltene Niederschlag nach mehrfachem Umkrystallisiren aus heissem Wasser, zuletzt aus heisser wässeriger Lösung mit absolutem Alkohol gefällt. Es gelang zwar, so auch diese Krystallisation vollkommen weiss zu erhalten, jedoch nicht mehr aschefrei. Die erhaltenen Krystalle waren rhombische Tafeln von schwach bitterem Geschmack und in Wasser leichter löslich, als die ersten zwei Krystallisationen.

0.1654 g dieses Präparates hinterliessen 0.0030 g Asche und gaben 0.3197 g $CO_2$ und 0.1466 g $H_2O$ oder 53.68 Proc. C und 10.00 Proc. H, aschefrei berechnet.

Von wesentlicher Bedeutung für die Gewinnung des schwer löslichen Leucins scheint die Dauer der Fäulniss zu sein. Bei Wiederholung dieses Versuches unter sonst genau gleichen Bedingungen, nur mit dem Unterschiede, dass ich die Flüssigkeit nicht bis zum Verschwinden der sauren Reaction, sondern sechs Tage lang ununterbrochen faulen liess, erhielt ich bei fractionirter Krystallisation des ammoniak- und säurefreien Fäulnissrückstandes zuerst ein Product, das geschmacklos war, die Löslichkeit des gewöhnlichen Leucins hatte und bei der Elementaranalyse 54.09 Proc. C und 9.91 Proc. H ergab. Das schwerer lösliche Leucin wurde in diesem Versuche gar nicht erhalten. Die zweite Krystallisation, die auch die Hauptmenge bildete, erwies sich bei näherer Untersuchung als Amidovaleriansäure. v. Gorup-Besanez[1]) hat bereits vor 20 Jahren die Amidovaleriansäure aus der Bauchspeicheldrüse erhalten und analysirt. Die Eigenschaften seines Präparates beschreibt er wie folgt:

Weisse, glänzende, mit blossem Auge erkennbare prismatische Krystalle. Mikroskopische Krystallisationen stellen sich als breite rhombische Tafeln und Prismen dar, die meist sternförmig gruppirt sind, wenn dieselben aus kochendem Weingeist sich ausschieden. Der Körper ist vollkommen geruchlos, besitzt aber einen deutlichen, bitterlich scharfen Geschmack. In kochendem Weingeist ist er weniger löslich als Leucin, in Säuren löst er sich auf und verbindet sich damit. Die Verbindungen mit Säuren sind in Wasser weit löslicher als die entsprechenden Leucinverbindungen, sie verwittern nicht wie diese, sondern zerfliessen an der Luft. Die salzsaure Verbindung krystallisirt in Nadeln, jedoch schwierig, die salpetersaure Verbindung in breiten Blättern und Prismen. In einer trockenen Glasröhre vorsichtig erwärmt, schmilzt er und sublimirt zum Theil in dicht verfilzten Nadeln und Flocken, jedoch stets unter partieller Zersetzung.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **98**, 10.

Die von mir erhaltene Amidovaleriansäure war vollkommen rein, wie dies aus folgender Kohlenwasserstoffbestimmung hervorgeht:

0.2493 g der Substanz gaben 0.4678 g $CO_2$ und 0.2102 g $H_2O$ oder 51.17 Proc. C und 9.36 Proc. H. Die Formel $C_5H_{11}NO_2$ verlangt 51.28 Proc. C und 9.40 Proc. H.

In ihren Eigenschaften stimmte sie ganz mit der von Gorup-Besanez beschriebenen überein; nur hatte sie einen Anfangs süsslichen, später scharf bitterlichen Geschmack. Es scheint mir daher, dass diese Amidovaleriansäure mit der von Gorup-Besanez erhaltenen identisch ist. Hervorheben will ich, dass diese Amidovaleriansäure stets in rhombischen Tafeln und Prismen krystallisirte. Ich hatte Gelegenheit, mein Präparat mit der von Dr. Jeanneret in meinem Laboratorium nach 30tägiger Fäulniss von Eiereiweiss mit einem Stückchen Ochsenpankreas bei Luftausschluss gleichzeitig erhaltenen Amidovaleriansäure zu vergleichen. Die Amidovaleriansäure aus Eiereiweiss krystallisirte auch nach häufigem Umkrystallisiren stets in sechsseitigen Tafeln, und wenn auch ihre sonstigen Eigenschaften die gleichen oder sehr ähnliche waren — an einer genaueren Untersuchung war ich durch Mangel an chemisch reinem Material verhindert — so bin ich doch der Ansicht, dass diese Amidosäuren nicht identisch, sondern isomer sind.

Da ich in meinen Versuchen über Fäulniss der Gelatine kein Leucin, sondern Glycocoll in grossen Mengen erhalten habe, und die jetzt im Handel vorkommende Gelatine ein sehr reines (eiweissfreies) Präparat ist, so war es für mich von Interesse, zu erfahren, ob überhaupt aus dem Molekül der reinen Gelatine Leucin abgespalten werden kann; auch wünschte ich im positiven Falle dieses Leucin mit dem bei der pankreatischen Fäulniss erhaltenen schwer löslichen zu vergleichen. Zu dem Zwecke wurde 1 Theil (250 g) käuflicher Gelatine (Qualität extra fein) mit verdünnter Schwefelsäure — 3 Theile concentrirte Säure in 6 Theilen Wasser gelöst — zehn bis zwölf Stunden lang am Rückflusskühler gekocht, hierauf mit viel Wasser verdünnt, die Schwefelsäure durch genaue Neutralisation mit Barythydrat entfernt und das Filtrat auf dem Wasserbade verdunstet. Sobald an der Oberfläche der Flüssigkeit sich eine Krystallhaut bildete, liess ich erkalten und filtrirte die abgeschiedenen Krystalle nach 24stündigem Stehen. Diese erste Krystallisation besteht vorwiegend aus Leucin, und demnach ist die ursprüngliche Angabe Braconnot's, dass Glutin mit $SO_4H_2$ gekocht Leucin und Glycocoll liefert, richtig. Es gelang mir aber nicht, es durch fractionirte Krystallisation von den kohlenstoffärmeren Homologen vollkommen zu trennen. Auch war die Ausbeute sehr gering. Ich erhielt 1.5 bis 2 Proc. des Rohproductes von dem Gewichte der angewandten Gelatine und nach mehrfachem Umkrystallisiren schmolz die Menge sehr zusammen. Das genau nach dem oben beschriebenen Verfahren gereinigte Präparat ergab folgende Zahlen:

0.1568 g der Substanz gaben 0.3117 g $CO_2$ und 0.1436 g $H_2O$ oder 54.22 Proc. C und 10.17 Proc. H.

Ein Präparat, von einer zweiten Darstellung herrührend, lieferte folgende Zahlen:

0.1929 g der Substanz gaben 0.3789 g $CO_2$ und 0.1757 g $H_2O$ oder 53.56 Proc. C und 10.11 Proc. H. Die Formel $C_6H_{13}NO_2$ verlangt: 54.96 Proc. C und 9.92 Proc. H.

Dieses Leucin war stets geruch- und geschmacklos, krystallisirte in undeutlichen verwachsenen rhombischen Tafeln und war in Wasser leichter löslich, als wie das süss schmeckende Fäulnissleucin.

Es ist bemerkenswerth, dass das in Wasser schwerer lösliche Leucin neben dem gewöhnlichen Leucin bei der Fäulniss des Drüseneiweisses entsteht. In dem Falle, wo ich das Auftreten des schwerer löslichen Leucins zuerst beobachtet habe, wurden 200 g Eiereiweiss mit 100 g Drüsensubstanz der Fäulniss unterworfen, und es ist sehr leicht möglich, dass das neue Leucin nicht aus dem Eiereiweiss, sondern aus dem Drüseneiweiss entstanden ist; denn nach 16 tägiger Fäulniss von Eiereiweiss mit nur kleinem Stückchen Pankreas (6 g) wurde von Herrn Jeanneret nur das gewöhnliche Leucin erhalten. Es bedarf jedoch wiederholter Versuche, ehe man diesen Unterschied zwischen Drüsen- und Eiereiweiss als wirklich bestehend wird ansehen können.

Es ist nicht zu bezweifeln, dass die Verschiedenheit der zahlreichen Eiweissstoffe in erster Linie durch die sie aufbauenden einfacheren Verbindungen bedingt wird. So liefern bei der Hydratation z. B. die leimgebenden Substanzen kein Tyrosin, wohl aber das Caseïn, das Serumeiweiss, das Eiereiweiss, das Blut- und Pflanzenfibrin. Ferner wird sie bedingt durch deren relative Menge. So liefert nach Schützenberger[1]) bei der Spaltung durch Barythydrat das Caseïn 4.1 Proc., hingegen das Pflanzenfibrin nur 2.0 Proc. Tyrosin. Gelatine liefert nur wenig Leucin, hauptsächlich Glycocoll, dagegen giebt nach Zollikofer das elastische Gewebe, mit Schwefelsäure gekocht, Leucin als einziges krystallinisches Product.

Aus meinen Untersuchungen geht aber hervor, dass noch ein anderes Moment die Verschiedenheit der Eiweissstoffe bedingen kann, nämlich die Isomerie der Componenten selbst, wie im vorliegenden Falle des Leucins und der Amidovaleriansäure, natürlich unter der Voraussetzung, dass diese isomeren Verbindungen nicht erst durch secundäre, molekulare Umlagerungen bei der Fäulniss, oder durch die besondere Art der Wirkung, auf welche diese Substanzen in diesem Processe aus dem Eiweissmolekül abgespalten werden, entstehen. Auf diesen Umstand ist wohl Rücksicht zu nehmen, da gerade bei der Zersetzung complexer organischer Moleküle durch den Lebensprocess der Anaërobien vielfach isomere Verbindungen gebildet werden. Ich weiss wohl, dass meine Beobachtungen auf diesem Gebiete noch lange nicht die wünschenswerthe Vollständigkeit besitzen, da sie aber bei Studien über Eiweisskörper gewissermaassen gelegentlich gemacht werden und so nur langsam vervollständigt werden können, so hielt ich es doch für zweckmässig, meine Wahrnehmungen zu veröffentlichen, um dadurch die Aufmerksamkeit anderer Chemiker, die sich mit Eiweisskörpern beschäftigen, auf diesen Gegenstand zu lenken. Auch bin ich mit Untersuchungen der bei der pankreatischen Fäulniss entstehenden flüchtigen Fettsäuren beschäftigt, nachdem ich schon früher dabei die Bildung zweier verschiedener Valeriansäuren bemerkt habe. Zur Vervollständigung meiner darauf bezüglichen Untersuchungen möchte ich hier noch erwähnen, dass in dem oben beschriebenen Versuche, wo ich Ochsenpankreas sechs Tage lang faulen liess, unter

[1]) Bull. de la Soc. chim. **24**, 159.

den flüchtigen Fettsäuren auch Capronsäure nachgewiesen wurde. Die höchst siedende Fraction ging bei nochmaligem Rectificiren constant zwischen 195 bis 198° bei 715 mm Barometerstand über. Ein Theil davon in das Silbersalz verwandelt, ergab bei der Silberbestimmung 48.50 Proc. Ag. Capronsaures Silber verlangt 48.43 Proc. Ag. Der Rest der Säure wurde mit kohlensaurem Guanidin neutralisirt und durch Erhitzen des Salzes auf 230° in das entsprechende Guanamin übergeführt. Die erhaltene Base krystallisirte in wohl ausgebildeten quadratischen Pyramiden, genau so, wie sie Bandrowski durch Erhitzen des Guanidinsalzes der gewöhnlichen Capronsäure (Isobutylessigsäure) erhielt.

---

## Ueber die Einwirkung der Monochloressigsäure auf Sulfocyansäure und ihre Salze

von

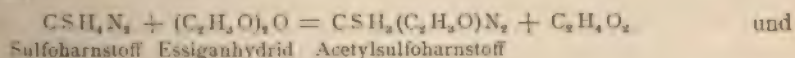
**M. Nencki.**

J. prakt. Chem. **16**, 1.

Vor ungefähr vier Jahren mit Untersuchungen über Sulfoharnstoff beschäftigt, habe ich gefunden, dass Sulfoharnstoff durch Essigsäureanhydrid zu Acetylsulfoharnstoff und durch Monochloressigsäure zu salzsaurem Glycolylsulfoharnstoff umgewandelt wird[1]. Während ich noch mit den Analysen des letzteren Körpers beschäftigt war, haben fast gleichzeitig Maly[2]) und Volhard[3]) ihre Arbeiten über den gleichen Gegenstand veröffentlicht, weshalb ich mich veranlasst sah, meine Untersuchungen hierüber einzustellen. Dagegen suchte ich zu erforschen, wie Essigsäureanhydrid gegenüber dem dem Sulfoharnstoff isomeren Rhodanammonium sich verhalten würde. Gemeinschaftlich mit Leppert[4]) haben wir dann gefunden, dass bei der Einwirkung von Essigsäureanhydrid auf Rhodanammonium essigsaures Ammoniak, Acetamid, Blausäure und Acetylpersulfocyansäure entstehen. Die letztere Substanz hat kürzlich Ph. de Clermont[5]) auch durch directe Einwirkung von Essigsäureanhydrid auf Persulfocyansäure dargestellt.

Das Studium des Verhaltens isomerer Körper gegen gleiche Reagentien hat für den Chemiker stets ein besonderes Interesse. Ich wollte deshalb sehen, wie die Chloressigsäure dem Rhodanammonium gegenüber sich verhalten würde. Man hatte nämlich:

$$\underset{\text{Sulfoharnstoff}}{CSH_4N_2} + \underset{\text{Essiganhydrid}}{(C_2H_3O)_2O} = \underset{\text{Acetylsulfoharnstoff}}{CSH_3(C_2H_3O)N_2} + C_2H_4O_2 \quad \text{und}$$

---

[1]) Ber. **6**, 598. — Dieser Band S. 52.

[2]) Anz. d. Akad. d. Wiss. z. Wien 1873, Nr. 6.

[3]) Ann. Chem. Pharm. **166**, 383.

[4]) Ber. **6**, 902. — Dieser Band S. 54.

[5]) Bull. de la Soc. chim. **25**, 525.

$$3(CNSNH_4) + 2(C_2H_3O)_2O = C_2H(C_2H_3O)N_2S_3 + C_2H_3O_2NH_4$$

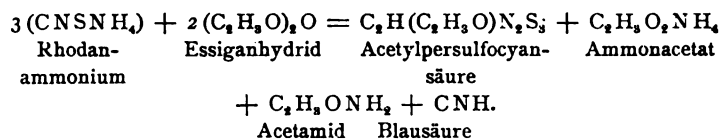
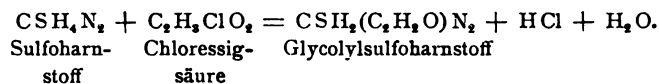
Rhodanammonium — Essiganhydrid — Acetylpersulfocyansäure — Ammonacetat

$$+ C_2H_3ONH_2 + CNH.$$

Acetamid — Blausäure

Ferner:

$$CSH_4N_2 + C_2H_3ClO_2 = CSH_2(C_2H_2O)N_2 + HCl + H_2O.$$

Sulfoharnstoff — Chloressigsäure — Glycolylsulfoharnstoff

Wird Rhodanammonium mit Chloressigsäure, gleichviel ob im Verhältniss ihrer Molekulargewichte, oder bei überschüssigem Rhodanammonium, trocken erwärmt, so erfolgt eine ausnehmend heftige Reaction. Die Masse verkohlt zum grössten Theil, und durch Ausziehen des kohligen Rückstandes mit Wasser lassen sich nur Spuren eines neuen Körpers isoliren, der dagegen, wenn man Chloressigsäure in wässeriger Lösung auf Rhodanammonium einwirken lässt, mit Leichtigkeit in jeder beliebigen Menge erhalten werden kann. Folgendes Verfahren ist das zweckmässigste. Ein Molekulargewicht Chloressigsäure wird in dem doppelten Gewichte Wasser gelöst und mit dem dreifachen Molekulargewicht Rhodanammonium in einer geräumigen Schale auf dem Wasserbade erwärmt. Bei etwa 70° tritt unter stürmischer Gasentwickelung die Reaction ein. Man entfernt die Schale vom Wasserbade, worauf beim Erkalten die Flüssigkeit zu einem Krystallbrei von schön gelben, sechsseitigen Tafeln und Prismen erstarrt. Die nach einigen Stunden von der Lauge abfiltrirten und mit kaltem Wasser ausgewaschenen Krystalle werden auf Fliesspapier, sodann über $SO_4H_2$ getrocknet. Es genügt, die Substanz nur noch einmal aus siedend heissem Wasser umzukrystallisiren, um sie in chemisch reinem Zustande zu erhalten.

Die Elementaranalysen dieser Verbindung zeigten, dass ihr die empirische Formel $C_3H_3NS_2O$ zukommt.

0.2551 g der über $SO_4H_2$ getrockneten Substanz gaben, mit chromsaurem Blei verbrannt, 0.2527 g $CO_2$ und 0.0576 g $H_2O$ oder 27.00 Proc. C und 2.50 Proc. H.

0.400 g gaben 0.3968 g $CO_2$ und 0.0820 g $H_2O$ oder 27.05 Proc. C und 2.27 Proc. H.

0.2729 g aus Alkohol umkrystallisirter Substanz gaben 0.2778 g $CO_2$ oder 27.76 Proc. C und 0.056 g $H_2O$ oder 2.28 Proc. H.

0.4208 g der aus Wasser umkrystallisirten Substanz gaben bei der Schwefelbestimmung nach Carius[1]) 1.4768 g $SO_4Ba$ oder 48.19 Proc. S.

[1]) Die Schwefelbestimmungen mussten mit starker Salpetersäure vom spec. Gewichte 1.4 ausgeführt und das Erhitzen im zugeschmolzenen Rohre so lange fortgesetzt werden, bis kein Druck mehr vorhanden war. Bei der Einwirkung der Salpetersäure auf die Substanz hat sich immer Schwefel abgeschieden, der nur schwer oxydirt wurde. Dem schwefelsauren Baryt war dann auch nach wiederholtem Eindampfen der Salpetersäure constant salpetersaures Baryum beigemengt, das erst nach dem Glühen des $SO_4Ba$ durch Waschen mit HCl entfernt wurde. Die Schwefelbestimmungen wurden von Herrn Dr. Hammerbacher ausgeführt. Bestimmungen mit Soda und chlorsaurem Kalium missglückten bei

0.2552 g der Substanz gaben 0.8908 $SO_4Ba$ = 47.94 Proc. S.

0.4439 g der Substanz gaben 1.5510 $SO_4Ba$ = 47.98 Proc. S.

0.2299 g der Substanz, mit CuO verbrannt, gaben 21.5 ccm N-Gas bei 710 mm Barometerstand und 12.5° T. oder 10.30 Proc. N.

0.3885 g der Substanz, mit CuO verbrannt, gaben 36 ccm N-Gas bei 15° T. und 710 mm Barometerstand oder 10.26 Proc. N.

Die Zusammenstellung der analytischen Data ergiebt daher mit der obigen Formel genaue Uebereinstimmung.

| | Versuch | | | | Theorie | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| C | 27.00 | 27.05 | 27.76 Proc. | $C_3$ | 27.06 Proc. |
| H | 2.50 | 2.27 | 2.28 „ | $H_3$ | 2.18 „ |
| S | 48.19 | 47.94 | 47.98 „ | $S_2$ | 48.12 „ |
| N | 10.30 | 10.26 | — „ | N | 10.51 „ |
| | | | | O | 12.13 „ |
| | | | | | 100.00 Proc. |

Dieser schön krystallisirende Körper, der die Eigenschaften einer Säure hat und den ich Rhodaninsäure nennen werde, ist nur sehr wenig in kaltem, leichter in heissem Wasser löslich und wird am besten aus siedend heisser wässeriger Lösung umkrystallisirt. In Alkohol und Aether ist er leicht löslich, ebenso in freien und kohlensauren Alkalien, sowie in Ammoniak. Aus den alkalischen Lösungen wird er durch Mineralsäuren und Essigsäure gefällt. Auf Lackmuspapier reagirt er sauer und schmeckt schwach bitter. Man erhält 25 bis 30 Proc. Rhodaninsäure von dem Gewichte der angewandten Chloressigsäure.

Die Rhodaninsäure giebt mit den Lösungen der meisten Metallsalze, vorzugsweise aber derjenigen, die zu Schwefel grössere Verwandtschaft haben als zu Sauerstoff, in Wasser schwer oder gar nicht lösliche, zum Theil krystallinische Niederschläge, die entweder Salze der Rhodaninsäure oder häufiger Doppelsalze mit der betreffenden Metalllösung sind, indem die Säure eine ausgesprochene Neigung hat, Doppelsalze zu bilden.

Rhodaninsaures Kupfer = $(C_3H_2NS_2O)_2Cu + H_2O$ wird erhalten durch Vermischen wässeriger Rhodaninsäurelösung mit verdünnter Kupfervitriollösung als ein amorpher, gelbgrüner Niederschlag, der beim Trocknen schmutzig gelb wird.

0.2207 g dieses Salzes gaben 0.0502 g CuO = 18.12 Proc. Cu und 0.1622 g lieferten 12 ccm N-Gas bei 15° T. und 713 mm Bst. oder 8.11 Proc. N.

Die obige Formel verlangt 8.10 Proc. N und 18.37 Proc. Cu.

Wird dieses Salz in viel kochendem Wasser vertheilt und mit heisser Salzsäure übergossen, so löst es sich mit gelbrother Farbe zum grossen Theil wieder auf mit

dieser Substanz stets. Mischungen der Substanz mit Soda und chlorsaurem Kalium, auch bei bedeutend grösserem Gehalt an Soda als gewöhnlich, explodirten jedesmal. Auch bei den volumetrischen Stickstoffbestimmungen bin ich bei dieser Substanz auf Schwierigkeiten gestossen. Verbrennungen mit $PbCrO_4$ gaben keinen constanten und stets zu hohen N-Gehalt. Dem Gase war Sauerstoff beigemengt, nachweisbar durch Pyrogallussäure. Ich habe daher bei der N-Bestimmung diese, sowie die weiter zu beschreibenden Substanzen immer mit CuO verbrannt.

Hinterlassung eines harzigen Rückstandes von zersetzter Rhodaninsäure, und aus der siedend heiss filtrirten Lösung krystallisirt beim Erkalten in goldgelben Nadeln ein schwer lösliches Salz von der Zusammensetzung: $(C_3H_3NS_2O)_2CuCl$. Eine vollständige Analyse dieses über $SO_4H_2$ getrockneten Kupferchlorürsalzes ergab folgende Zahlen:

0.2476 g gaben 0.1823 g $CO_2$ und 0.047 $H_2O$ oder 20.08 Proc. C und 2.12 Proc. H und 0.2404 g gaben 0.177 g $CO_2$ und 0.0502 g $H_2O$ oder 20.07 Proc. C und 2.31 Proc. H.

0.3023 g gaben 0.1130 g AgCl oder 9.24 Proc. Cl.

0.5300 g des Salzes hinterliessen 0.1112 g CuO oder 16.76 Proc. Cu.

Ein anderes, noch einmal aus heisser verdünnter Salzsäure umkrystallisirtes Präparat lieferte folgende Zahlen:

0.1948 g der Substanz gaben 0.0418 CuO = 17.134 Proc. Cu.

0.3640 g der Substanz gaben 0.1438 AgCl = 9.765 Proc. Cl.

0.0990 g der Substanz gaben 0.2555 $SO_4Ba$ = 35.3 Proc. S.

0.1969 g der Substanz gaben 13.6 ccm N-Gas bei 11° T. und 714 mm Barometerstand oder 7.55 Proc. N.

| | Versuch I. | | | Versuch II. | | Theorie $(C_3H_3NS_2O)_2CuCl$ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C | 20.08 | und 20.07 | Proc. | — | Proc. | $C_6$ | 19.73 | Proc. |
| H | 2.12 | 2.31 | " | — | " | $H_6$ | 1.65 | " |
| N | — | — | " | 7.55 | " | $N_2$ | 7.67 | " |
| S | — | — | " | 35.30 | " | $S_4$ | 35.07 | " |
| O | — | — | " | — | " | $O_2$ | 8.77 | " |
| Cu | 16.76 | — | " | 17.13 | " | Cu | 17.39 | " |
| Cl | 9.24 | — | " | 9.76 | " | Cl | 9.72 | " |

Das Salz $(C_3H_3NS_2O)_2CuCl$ wurde in Wasser vertheilt und durch Einleiten von $H_2S$ zersetzt. Aus der heiss von dem abgeschiedenen Schwefelpulver filtrirten Lösung krystallisirte freie Rhodaninsäure in den für sie charakteristischen Formen aus. Zur völligen Sicherheit wurde die auskrystallisirte Substanz noch einmal aus heissem Wasser umkrystallisirt und nach dem Trocknen über $SO_4H_2$ der C- und H-Gehalt bestimmt.

0.289 g der Substanz gaben 0.2884 g $CO_2$ und 0.0695 g $H_2O$ oder 27.21 Proc. C und 2.67 Proc. H.

Die Formel $C_3H_3NS_2O$ verlangt 27.06 Proc. C und 2.18 Proc. H.

Eine ammoniakalische Rhodaninlösung giebt mit ammoniakalischer Lösung von Kupfervitriol einen schwarzen körnigen Niederschlag, der ein Cuprammoniumsalz zu sein scheint. Präparate verschiedener Darstellung haben jedoch keine übereinstimmenden Zahlen ergeben.

Wässerige Lösung der Rhodaninsäure bildet mit Bleilösungen mehrere Salze, die jedoch, mikroskopisch untersucht, nicht homogen erscheinen. Stark verdünnte Lösungen der Rhodaninsäure, in 90 proc. Alkohol mit überschüssiger alkoholischer Bleizuckerlösung versetzt, erzeugen einen gelblichen, aus homogenen mikroskopischen Nadeln bestehenden Niederschlag. Sind die Lösungen concentrirter, so ist der Niederschlag amorph. Die Analyse eines unter dem Mikroskope ganz gleichmässig

aussehenden krystallinischen Präparates, dafs über $SO_4H_2$ getrocknet wurde, lieferte Zahlen, die ziemlich annähernd auf die Formel $(C_3H_2NS_2O)_2Pb + PbO$ stimmen.

0.3285 g der Substanz, mit $NO_3H$ im zugeschmolzenen Rohre oxydirt, gaben 0.2823 g $SO_4Pb$ oder 58.71 Proc. Pb.

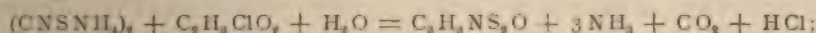
0.5319 g der Substanz gaben 0.2171 g $CO_2$ und 0.0443 g $H_2O$ oder 11.13 Proc. C und 0.92 Proc. H.

0.574 g der Substanz gaben 19 ccm N-Gas bei 17° T. und 720 mm Barometerstand oder 3.64 Proc. N.

| Versuch | | | Theorie | | |
|---|---|---|---|---|---|
| C | 11.13 | Proc. | $C_6$ | 10.38 | Proc. |
| H | 0.92 | „ | $H_4$ | 0.58 | „ |
| N | 3.64 | „ | $N_2$ | 4.00 | „ |
| Pb | 58.71 | „ | $Pb_2$ | 59.64 | „ |

Auch die Niederschläge, die durch $NO_3Ag$ in Rhodaninsäurelösungen hervorgerufen werden, sind nicht homogen, zum Theil krystallinisch, zum Theil amorph. Ich habe sie nicht analysirt. Ammoniakalische Lösungen der Rhodaninsäure und des Silbers geben Anfangs Niederschläge, die aber sehr bald schon in der Kälte unter Bildung von braunen Farbstoffen sich zersetzen. Bemerkenswerth und für die Beurtheilung der molekularen Structur der Rhodaninsäure von Bedeutung ist es, dass Rhodaninsäure mit Ammoniak kein Salz zu bilden im Stande ist. Wird eine concentrirte ammoniakalische Lösung der Säure, sei es auf dem Wasserbade, sei es im Exsiccator, über $SO_4H_2$ verdunstet, so geht alles Ammoniak weg und reine Rhodaninsäure hinterbleibt. Von fixen Alkalien wird sie beim Erwärmen leicht zersetzt. Die angesäuerte Lösung riecht dann nach $SH_2$. Von stärkeren oxydirenden Agentien wird sie heftig angegriffen, meistens unter Abscheidung von Schwefel. Trocken erhitzt schmilzt sie im Capillarröhrchen bei 168 bis 170° zu einer klaren braunrothen Flüssigkeit, jedoch nicht ohne theilweise Zersetzung.

Die Bildung der Rhodaninsäure erfolgt sehr wahrscheinlich nach folgender Gleichung:

$$(CNSNH_4)_2 + C_2H_3ClO_2 + H_2O = C_3H_3NS_2O + 3NH_3 + CO_2 + HCl;$$

jedoch treten dabei in Folge secundärer Reactionen noch andere Producte auf. Obgleich die Einwirkung der Chloressigsäure auf Rhodanammonium auch in wässeriger Lösung eine sehr heftige und die Gasentwickelung eine sehr stürmische, fast momentane ist, suchte ich in einem eigens dazu angestellten Versuche wenigstens qualitativ die auftretenden Gase zu bestimmen. Es wurde zu diesem Zwecke Rhodanammonium, Chloressigsäure und Wasser in den oben angegebenen Verhältnissen in einem mit Kühler verbundenen Kolben auf dem Wasserbade erwärmt. Statt der Vorlage wurde das andere Ende des Kühlrohres mit einem U-förmigen, in einer Mischung von Eis und Kochsalz befindlichen Rohre verbunden. Die entweichenden Gase passirten sodann Röhren mit Chlorcalcium, Kautschukstückchen und Quecksilberoxyd gefüllt. Das so nicht zurückgehaltene Gas wurde im Eudiometer über Quecksilber aufgefangen. In der abgekühlten U-förmigen Röhre wurden Blausäure und Schwefelcyanwasserstoffsäure condensirt. Das entweichende Gas

bestand vorwiegend aus Kohlenoxysulfid, Kohlensäure neben wenig Schwefelwasserstoff. Die von der im Kolben umkrystallisirten Rhodaninsäure filtrirte, stark nach Blausäure riechende Lauge hinterliess, auf dem Wasserbade verdunstet, hauptsächlich Salmiak neben wenig Rhodanammonium.

Genau wie aus Rhodanammonium entsteht die Rhodaninsäure beim Erwärmen concentrirter wässeriger Lösungen von Chloressigsäure auch mit anderen Salzen der Rhodanwasserstoffsäure, geprüft wurde darauf Rhodankalium und Rhodannatrium. Freie Rhodanwasserstoffsäure, mit Chloressigsäure erwärmt, liefert ein wesentlich anderes Product, das weiter unten beschrieben werden soll.

## Die Farbstoffe der Rhodaninsäure.

Die Rhodaninsäure ist ausgezeichnet durch die Leichtigkeit, mit der sie in Farbstoffe übergeht. Mit schwach oxydirenden Agentien, so mit Jod in alkoholischer Lösung, rothem Blutlaugensalz, am zweckmässigsten jedoch mit Eisensalzen (Eisenchlorid oder Eisenvitriol) in wässeriger Lösung erwärmt, geht sie unter schwacher Gasentwickelung in einen rothbraunen, in Wasser sehr wenig löslichen Farbstoff über, der aber nicht homogen ist, sondern mindestens aus zwei verschiedenen Oxydationsproducten der Rhodaninsäure besteht. Da mir ursprünglich die Kenntniss dieser Farbstoffe nicht ohne praktische Bedeutung zu sein schien, habe ich auf Grund mehrfacher Versuche folgendes Verfahren als das ergiebigste ermittelt.

Ein Theil Rhodaninsäure wird in siedend heissem Wasser gelöst und noch heiss mit einer concentrirten Lösung von 5 Theilen Eisenchlorid versetzt. Es entsteht zuerst ein brauner Niederschlag, offenbar ein Eisensalz der Rhodaninsäure, der jedoch in wenigen Augenblicken schön braunroth wird, und gleichzeitig findet Gasentwickelung statt. Nach etwa einer halbstündigen Digestion auf dem Wasserbade lässt man erkalten, worauf sich der Farbstoff als körniger Niederschlag zu Boden setzt. Die darüber stehende Flüssigkeit wird nun abgegossen, der Niederschlag auf ein Filter gebracht und so lange mit kaltem Wasser ausgewaschen, bis das Filtrat nicht mehr die Eisenreaction zeigt. Hierauf auf Fliesspapier und zuletzt über $SO_4H_2$ getrocknet. Die Ausbeute an Rohproduct beträgt über 80 Proc. von dem Gewichte der angewandten Rhodaninsäure. Das während des Erwärmens entweichende Gas ist hauptsächlich Kohlenoxysulfid, kenntlich schon an dem charakteristischen Geruche. Entzündet brannte es mit schwach blauer Flamme, und über Quecksilber aufgefangen wurde das Gas von Kalistückchen fast vollständig absorbirt. Das Kali, in wenig Wasser gelöst und mit überschüssiger Salzsäure versetzt, entwickelte reichlich Kohlensäure und Schwefelwasserstoff.

Aus dem Rohproducte habe ich auf folgende Weise einen Farbstoff, den ich Rhodaninroth nennen werde, isolirt.

Der über $SO_4H_2$ getrocknete Farbstoff wurde mit 90 proc. Alkohol gekocht und nach dem Erkalten von dem Ungelösten filtrirt; das alkoholische Filtrat verdunstet, der Rückstand mit stark verdünntem Ammoniak aufgenommen, filtrirt und das Filtrat mit Salzsäure gefällt. Der entstandene Niederschlag sorgfältig auf dem Filter mit kaltem Wasser ausgewaschen, zunächst auf Fliesspapier, sodann über

$SO_4H_2$ bis zu constantem Gewichte getrocknet, ergab bei der Elementaranalyse folgende Zahlen:

0.2393 g der Substanz, in offenem Rohre mit $PbCrO_4$ verbrannt, gaben 0.2538 g $CO_2$ und 0.0330 g $H_2O$ und hinterliessen 0.0055 g Asche, aus Eisenoxyd bestehend, oder nach Abzug der Asche 29.59 Proc. C und 1.56 Proc. H.

0.1904 g gaben 0.5978 g $BaSO_4$ oder nach Abzug der Asche 44.11 Proc. S.

0.305 g oder 0.2987 g aschefrei, mit CuO verbrannt, gaben 32 ccm N-Gas bei 13° T. und 701 mm Barometerstand oder 11.70 Proc. N.

0.2217 g oder 0.2171 g aschefrei gaben 23 ccm N-Gas bei 709 mm Barometerstand und 12° T. oder 11.70 Proc. N.

Aus diesen Zahlen ergiebt sich, dass dem Rhodaninroth die Formel $C_9H_5N_3S_5O_3$ zukommt:

| Versuch | | | Theorie | | |
|---|---|---|---|---|---|
| C | 29.59 Proc. | | $C_9$ | 29.75 Proc. | |
| H | 1.56 „ | | $H_5$ | 1.38 „ | |
| N | 11.70 „ | u. 11.70 Proc. | $N_3$ | 11.57 „ | |
| S | 44.11 „ | | $S_5$ | 44.07 „ | |
| | | | $O_3$ | 13.23 „ | |

Die Entstehung des Rhodaninroths erfolgt wahrscheinlich nach der Gleichung:

$$(C_3NS_2OH_2)_3 = C_9N_3H_5O_3 + 4(ClH) + S.$$

Das Rhodaninroth stellt im trockenen Zustande ein braunrothes Pulver dar, das beim Reiben grünen metallischen Glanz annimmt. In heissem Wasser ist es nur sehr wenig löslich, leichter in Alkohol und Aether, leicht in kaustischen kohlensauren Alkalien und Ammoniak. Die Lösungen sind prächtig roth, ähnlich der Orseille. Aus den alkalischen Lösungen wird es durch Säuren in amorphen braunrothen Flocken gefällt. Das Rhodaninroth zeigt demnach Eigenschaften einer Säure, obgleich es mir nicht gelang, Salze mit Alkalien zu erhalten. Heisse wässerige oder auch ammoniakalische Lösungen des Rhodaninroths geben mit Kupfer- und Silberlösungen amorphe braunrothe Niederschläge, unlöslich in überschüssigem Ammoniak. Das Rhodaninroth gleicht darin der Rhodaninsäure, die, wie oben erwähnt, ebenfalls nur mit Metallen Salze bildet, welche im Allgemeinen grössere Verwandtschaft zu Schwefel als zu Sauerstoff zeigen. Aus dem in kaltem Alkohol ungelöst gebliebenen Theil des Rohproductes, etwas mehr wie die Hälfte der Gesammtmenge betragend, kann durch wiederholtes Ausziehen mit heissem Alkohol, Verdunsten der alkoholischen Lösung, Wiederaufnehmen des Rückstandes mit verdünntem Ammoniak und Fällen mit Salzsäure oder Essigsäure ein brauner amorpher Farbstoff gewonnen werden, der sich mit schön violetter Farbe in Alkalien löst, der aber nicht homogen ist. Wird nämlich das Rohproduct so lange mit $NH_3$ extrahirt, als sich noch etwas löst, so bleibt nur Schwefel zurück; der letzte Antheil aber wird von Ammoniak nicht mehr mit violetter, sondern mit rein blauer Farbe gelöst. Die Elementaranalysen des Präparates ergaben auch zwar nahe stehende, jedoch nicht übereinstimmende Zahlen. So wurde in einer mit Essigsäure aus der ammoniakalischen Lösung gefällten und über $SO_4H_2$ getrockneten Portion gefunden: C 28.73 Proc., H 2.24 und 38.05 Proc. S. Ein Präparat, von einer anderen Darstellung herrührend

und mit Salzsäure gefällt, ergab: C 30.9 Proc., H 2.62 Proc., S 39.49 Proc. nach der Methode von Carius und 39.59 Proc. nach der von Kolbe bestimmt. Aus diesen Analysen geht jedenfalls hervor, dass dieses Product in 100 Theilen weniger Schwefel enthält und durch weitere Abspaltung von S vielleicht als COS aus der Rhodaninsäure entsteht.

Sowohl das Rhodaninroth als auch der violette Farbstoff werden in der alkalischen Lösung durch Zusatz von Säuren auf Seide und Wolle direct fixirt. Alkalische Lösungen des Rohproductes färben Baumwolle blau. Durch heisse Seifenlösungen wird die Farbe zum Theil wieder entfernt. Die Schönheit, die grosse Intensität der Farbstoffe, sowie ihre leichte Darstellung machten es wünschenswerth, ihre technische Anwendung zu versuchen. Das Haus Geigy und Comp. in Basel hatte die grosse Freundlichkeit, grössere Quantitäten des Farbstoffes darzustellen und in Färbereien Versuche damit anstellen zu lassen. Das Rohproduct hat sich auch wirklich in der Anwendung als „Orseilleersatz" vortrefflich bewährt. Leider scheiterte die praktische Verwerthung an der Schwierigkeit, Chloressigsäure zu billigem Preise herzustellen, und manche von uns zur Chlorirung der Essigsäure angestellten Versuche lieferten keine günstigeren Resultate als nach den bisherigen Methoden.

Wird ammoniakalische Rhodaninlösung mit Chloralhydrat erwärmt, so entweicht in Strömen Chloroform, die Flüssigkeit nimmt eine dunkelbraune Färbung an und durch Zusatz von Salzsäure scheidet sich ein gelbbrauner Farbstoff als körniger Niederschlag aus. Dieser Farbstoff, in Aether, Alkohol und Alkalien mit dunkelbrauner Farbe löslich, wird ebenfalls durch Säuren aus der alkalischen Lösung auf pflanzlicher und thierischer Faser fixirt. Ich habe ihn jedoch nicht weiter untersucht.

## Die Carbaminsulfoessigsäure.

Die unerwartete Reaction, welche zwischen Chloressigsäure und sulfocyansauren Salzen stattfindet, veranlasste mich, das Verhalten der Chloressigsäure zu freier Sulfocyansäure zu prüfen. In der Erwartung, dadurch vielleicht Aufklärung über den Entstehungsprocess und molekulare Structur der Rhodaninsäure zu erhalten, habe ich ein Gemisch von 250 g Rhodanammonium und 250 g englischer Schwefelsäure, die letztere mit dem vierfachen Gewichte Wasser vorher verdünnt, aus einer Retorte destillirt, so lange, bis etwa zwei Drittel der Flüssigkeit übergingen. Das Destillat liess ich etwa 12 Stunden zur Entfernung der Blausäure an der Luft stehen, sodann wurde filtrirt, der Flüssigkeit 30 g reine Chloressigsäure zugesetzt und auf dem Wasserbade eingedampft. Die während des Eindampfens entweichende Salzsäure war ein Anzeichen, dass auch hier eine Reaction stattfindet. Die Flüssigkeit wurde nun so lange auf dem Wasserbade verdunstet, bis aus einer herausgenommenen Probe beim Abkühlen Krystalle sich abschieden. Hierauf liess ich erkalten und filtrirte die abgeschiedenen Krystalle von der Mutterlauge ab, welche letztere, weiter auf dem Wasserbade bis etwa auf die Hälfte ihres Volumens concentrirt, beim Erkalten zu einem aus wasserhellen rhombischen Tafeln bestehenden Krystallbrei erstarrt. Die erste Krystallisation ist in der Regel nicht homogen. Schon mit blossem Au erkennt man, dass den wasserhellen rhombischen Krystallen in geringer Menge n

ein gelber Körper beigemischt ist. Die mikroskopische Untersuchung zeigt denn auch, dass der gelbe Körper Rhodaninsäure ist, leicht kenntlich an der Krystallform, sowie durch die Farbenreaction mit Eisensalzen. Die zweite Krystallisation ist dagegen ganz homogen. Die abfiltrirten Krystalle wurden mit wenig Wasser gewaschen und auf Fliesspapier getrocknet. Einmal aus wenig heissem Wasser umkrystallisirt, sind sie chlorfrei und chemisch rein. Die Elementaranalyse des über $SO_4H_2$ getrockneten Körpers, den ich Carbaminsulfoessigsäure nennen werde, ergab folgende Zahlen:

0.226 g der Substanz gaben 0.2216 g $CO_2$ und 0.079 g $H_2O$ oder 26.30 Proc. C und 3.88 Proc. H.

0.1845 g gaben 17 ccm N-Gas bei 14° T. und 706 mm Barometerstand oder 10.03 Proc. N.

0.2375 g gaben, nach der Carius'schen Methode oxydirt, 0.4075 g $SO_4Ba$ oder 23.56 Proc. S.

Aus diesen Zahlen ergiebt sich, dass dem Körper die Formel: $C_3H_5NSO_3$ zukommt.

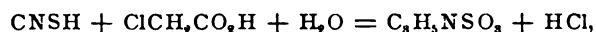
| Versuch | | Theorie | |
|---|---|---|---|
| C | 26.30 Proc. | $C_3$ | 26.67 Proc. |
| H | 3.88 „ | $H_5$ | 3.70 „ |
| N | 10.03 „ | N | 10.37 „ |
| S | 23.56 „ | S | 23.70 „ |
| | | O | 35.56 „ |

Die Carbaminsulfoessigsäure schmeckt und reagirt sauer. In Wasser, namentlich in der Wärme, und Alkohol ist sie leicht löslich, weniger in Aether. Sie lässt sich gut und ohne jede Zersetzung aus heisser wässeriger Lösung umkrystallisiren. Da der Gehalt an freier Sulfocyansäure in den Destillaten, wie sie durch Erhitzen von Rhodansalzen mit verdünnter Schwefelsäure erhalten werden, wechselnd ist, so war es nicht gut möglich, die Gewichtsverhältnisse für die vortheilhafteste Darstellung der Carbaminsulfoessigsäure zu ermitteln. Als in einem Versuche dem Destillate von 250 g Rhodanammonium 50 g Chloressigsäure zugesetzt wurden, erhielt ich nur Carbaminsulfoessigsäure, frei von Rhodaninsäure. Doch war die Ausbeute geringer als bei Anwendung von nur 30 g Chloressigsäure, wo ich im Mittel aus mehreren Versuchen aus 30 g Chloressigsäure etwa 5 g Carbaminsulfoessigsäure erhielt.

Auf Grund der analytischen Resultate glaubte ich Anfangs die zuerst von Heintz[1]) erhaltene Sulfocyanessigsäure mit einem Molekül Krystallwasser $CNS - CH_2CO_2H + H_2O$ vor mir zu haben. Leicht konnte ich mich jedoch überzeugen, dass dem nicht so ist. Nach Heintz schmilzt die Sulfocyanessigsäure bei 128° zu einer farblosen Flüssigkeit, welche beim Erkalten krystallinisch strahlig oder blätterig erstarrt. Ich habe den Schmelzpunkt der von mir erhaltenen Substanz zum wiederholten Male constant bei 143° gefunden. In dem Augenblicke, wo sie geschmolzen ist, findet auch Gasentwickelung statt. Wurden grössere Portionen der Säure vorsichtig bis zum Schmelzen erhitzt, so zersetzte sie sich unter heftiger Gasentwickelung. Die entweichenden, zum Husten reizenden Dämpfe habe ich sogleich

[1]) Ann. Chem. Pharm. **136**, 232.

als Cyansäure erkannt, und der hinterbliebene gelbliche Syrup krystallisirte auch nach mehrtägigem Stehen nicht mehr. Er war, wie ich mich nachher überzeugte, reine Sulfoglycolsäure. In der That zerfällt der von mir erhaltene Körper, ähnlich wie durch Hitze, unter dem Einflusse auch der gelindesten Reagentien quantitativ in Cyansäure und Sulfoglycolsäure. Die Reaction zwischen Chloressigsäure und Sulfocyansäure in wässeriger Lösung erfolgt zweifellos nach der Gleichung:

$$CNSH + ClCH_2CO_2H + H_2O = C_3H_5NSO_3 + HCl,$$

und die molekulare Structur der Carbaminsulfoessigsäure wird demnach durch die Formel $NH_2COSCH_2CO_2H$ ausgedrückt.

Es gelang mir nicht, Metallverbindungen der Carbaminsulfoessigsäure darzustellen, da die wässerige Lösung der Säure, z. B. mit Silberlösung versetzt, schon in der Kälte in Cyansäure und Sulfoglycolsäure zerfällt. Der entstandene, in Wasser und verdünnten Säuren völlig unlösliche Niederschlag erwies sich als stickstofffrei und war sulfoglycolsaures Silber.

Wässerige Lösungen der Säure, mit kalter Bleiessiglösung versetzt, geben Anfangs keine Trübung. Sehr bald entsteht jedoch ein weisser Niederschlag, der schon in der Kälte, rascher beim Erwärmen, gelb wird. Es entsteht nunmehr die Bleisulfoglycolsäure $Pb(S—CH_2—CO_2H)_2$. Beim fortgesetzten Erwärmen entweicht Cyansäure, resp. deren Zersetzungsproduct Kohlensäure, und der amorphe gelbe Niederschlag wird weiss und krystallinisch. Es ist dies das kürzlich von Claesson[1]) dargestellte bleisulfoglycolsaure Blei, $Pb(S—CH_2—CO_2)_2Pb$. Unter dem Mikroskope zeigte sich das Salz als vollkommen gleichmässig, aus flachen, meistens concentrisch gruppirten Prismen bestehend. Ueber $SO_4H_2$ getrocknet, ergab das stickstofffreie Salz folgende Zahlen:

0.4158 g gaben 0.124 g $CO_2$ und 0.0279 g $H_2O$ oder 8.13 Proc. C und 0.74 Proc. H.

0.5356 g, mit Salpetersäure im zugeschmolzenen Rohre erhitzt, gaben 0.5412 g $SO_4Pb$ oder 69.03 Proc. Pb und 10.65 Proc. S. Das schwefelsaure Blei wurde nach Verjagung der Salpetersäure mit Alkohol angerührt und aufs Filter gebracht. Das Filtrat erwies sich sowohl vollkommen Pb-, als auch $SO_4H_2$-frei.

Die erhaltenen Zahlen stimmen mit den für die Formel $Pb(S—CH_2—CO_2)_2Pb$ berechneten genau überein.

| | Versuch | | Theorie |
|---|---|---|---|
| C | 8.13 Proc. | C | 8.09 Proc. |
| H | 0.74 „ | H | 0.69 „ |
| Pb | 69.03 „ | Pb | 69.66 „ |
| S | 10.65 „ | S | 10.78 „ |
| | | O | 10.78 „ |

Die Resultate der vorliegenden Untersuchung zeigen zunächst, dass die Reaction zwischen Chloressigsäure und Sulfocyansäure ganz anders verläuft, je nachdem die letztere als freie Säure oder in Form eines Salzes angewendet wird. Merkwürdigerweise ergiebt die nachfolgende Untersuchung des Herrn Dr. Jäger, dass die sulfo-

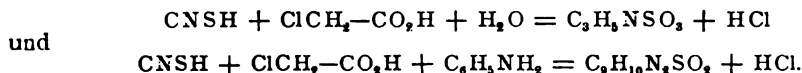
[1]) Ann. Chem. Pharm. **187**, 123.

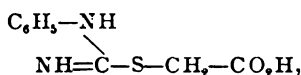
cyansauren Salze der aromatischen Monamine, mit Chloressigsäure erwärmt, im Wesentlichen ähnlich wie die freie Sulfocyansäure sich verhalten.

Man hat nämlich:

$$CNSH + ClCH_2{-}CO_2H + H_2O = C_3H_5NSO_3 + HCl$$

und

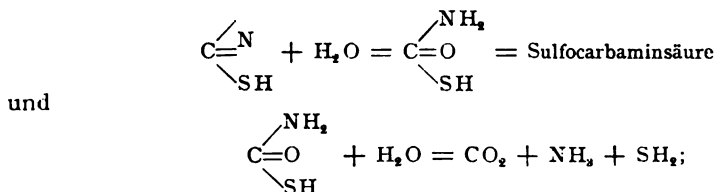
$$CNSH + ClCH_2{-}CO_2H + C_6H_5NH_2 = C_9H_{10}N_2SO_2 + HCl.$$

Im zweiten Falle übernimmt die aromatische Base die Rolle des Wassers im ersten, und da der Carbaminsulfoessigsäure die Structur $NH_2\text{-}CO\text{-}S\text{-}CH_2\text{-}CO_2H$ zukommt, so ergiebt die Analogie für das Reactionsproduct von Chloressigsäure auf rhodanwasserstoffsaures Anilin die Structurformel:

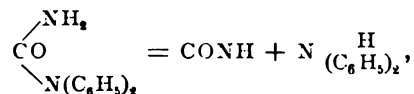
$$\begin{array}{l} C_6H_5{-}NH \\ \quad\quad\quad\diagdown \\ NH{=}C{-}S{-}CH_2{-}CO_2H, \end{array}$$

d. h. der Körper ist Phenylcarbodiimidosulfoessigsäure. Ueberdies zerfallen diese aromatischen Producte analog der Carbaminsulfoessigsäure durch Wasseraufnahme in monosubstituirte Harnstoffe und Sulfoglycolsäure.

Nicht uninteressant ist der ausserordentlich leichte Zerfall der Carbaminsulfoessigsäure in Cyansäure und Sulfoglycolsäure. Man ersieht daraus, dass, wenn die Sulfocyansäure durch Wasseraufnahme nach der Gleichung $CNSH + 2H_2O = CO_2 + NH_3 + H_2S$ zerfällt, dies eigentlich in zwei Phasen geschieht:

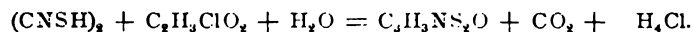
$$C\begin{cases} \equiv N \\ {-}SH \end{cases} + H_2O = C\begin{cases} {-}NH_2 \\ {=}O \\ {-}SH \end{cases} = \text{Sulfocarbaminsäure}$$

und

$$C\begin{cases} {-}NH_2 \\ {=}O \\ {-}SH \end{cases} + H_2O = CO_2 + NH_3 + SH_2;$$

ferner, da eine andere Structurformel der Carbaminsulfoessigsäure nicht denkbar ist, ist die von mir beobachtete Spaltung ein Pendant zu der kürzlich von Michler[1]) gemachten Beobachtung, wonach der unsymmetrische Diphenylharnstoff bei der trockenen Destillation in Diphenylamin und Cyansäure zerfällt:

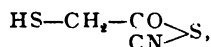
$$CO\begin{cases} NH_2 \\ N(C_6H_5)_2 \end{cases} = CONH + N\begin{cases} H \\ (C_6H_5)_2 \end{cases},$$

ein weiterer Beweis für die Carbimidnatur der Cyansäure.

Die Einwirkung der Chloressigsäure auf Rhodansalze ist ein etwas complicirterer Process. Es treten hier zwei Moleküle Sulfocyansäure in Reaction:

$$(CNSH)_2 + C_2H_3ClO_2 + H_2O = C_3H_3NS_2O + CO_2 + H_4Cl.$$

Berücksichtigt man nun, wie leicht die Chloressigsäure unter Austritt von Cl und OH in den zweiwerthigen Glycolylrest übergeht, so z. B. bei der Einwirkung von Chloressigsäure auf Sulfoharnstoff, so wird folgende Structurformel der Rhodaninsäure sehr wahrscheinlich:

---

[1]) Ber. **9**, 715.

$$HS-CH_2-\begin{matrix}CO \\ CN\end{matrix}\!>\!S,$$

d. h. sie ist ein Sulfoglycoläther der Rhodanwasserstoffsäure. Auch hier verläuft wohl die Reaction in zwei Phasen, indem zunächst Carbaminsulfoessigsäure entsteht, die aber gleich durch weitere Aufnahme von Wasser in Kohlensäure, Ammoniak und Sulfoglycolsäure zerfällt, welche letztere mit einem zweiten Molekül der Sulfocyansäure unter Wasseraustritt sich zu Rhodaninsäure vereinigt. Für die obige Structurformel der Rhodaninsäure spricht auch der Umstand, dass der durch Metalle in ihr vertretbare Wasserstoff jedenfalls mit S und nicht mit O verbunden ist. Es geht dies daraus hervor, dass die Rhodaninsäure mit Ammoniak kein Salz zu bilden im Stande ist, wohl aber mit Metallen, welche zu Schwefel grössere Affinität besitzen als zu Sauerstoff. Schwieriger und wegen ihrer Mannigfaltigkeit jetzt nicht erklärbar ist der Entstehungsmodus der farbigen Derivate der Rhodaninsäure. Es bedarf dazu fortgesetzter genauer Untersuchungen, die ich aber, gegenwärtig mit anderen Arbeiten beschäftigt, erst später wieder aufnehmen kann.

Bern, im Mai 1877.

---

# Die Einwirkung der Monochloressigsäure auf Rhodansalze der aromatischen Monamine

von

**J. H. Jäger.**

J. pr. Ch. **16**, 17.

Im Anschluss an die Arbeit des Herrn Prof. Nencki erlaube ich mir im Nachstehenden einige Untersuchungen zu beschreiben, die Einwirkung der Monochloressigsäure auf Rhodansalze aromatischer Monamine betreffend. Das unerwartete Resultat, das Nencki bei der Einwirkung der Monochloressigsäure auf Rhodanammonium erhalten hatte, liess es wünschenswerth erscheinen, diese Reaction weiter zu verfolgen und auch auf andere Rhodanverbindungen auszudehnen, zumal die Chloressigsäure gegen freie Sulfocyansäure und gegen sulfocyansaure Salze ein so ganz verschiedenes Verhalten zeigte.

Bei einer Vorprobe hatte Prof. Nencki beobachtet, dass, wenn man, anstatt nur Rhodanammonium und Monochloressigsäure, wie bei der Bildung der Rhodaninsäure, auf einander wirken zu lassen, noch Anilin zusetzt, die Reaction wohl eintritt, das Reactionsproduct hingegen ein anderes ist.

Die weitere Bearbeitung dieses Gegenstandes überliess mir derselbe gütigst. Ausser dem Anilin zog ich noch das Toluidin in den Gang meiner Untersuchungen. Zunächst musste ich mich überzeugen, ob die Reaction dieselbe ist bei Anwendung von Rhodananilin, wie bei Anilin und Rhodanammonium. Zu diesem Zweck stellte

ich mir Rhodananilin dar. Ich verschaffte mir vorerst Rhodanwasserstoffsäure durch Destillation von Rhodanammonium mit verdünnter Schwefelsäure nach der Vorschrift von Meitzendorf. Das wässerige Destillat wurde mit Anilin neutralisirt und verdampft. Rhodananilin, mit Monochloressigsäure in alkoholischer Lösung zusammengebracht und erwärmt, lässt eine sichtbare Reaction kaum bemerken; verdampft man aber bis zum Syrup und setzt nach dem Erkalten Wasser zu, so fällt das entstandene Product krystallinisch aus. Dass dasselbe identisch ist dem aus Rhodanammonium und Anilin erhaltenen, davon überzeugte ich mich sehr bald. Auch einen Versuch mit Rhodankalium und Anilin habe ich angestellt und hier ebenfalls das gleiche Product erhalten. Für die nachfolgenden Versuche habe ich daher nur Rhodanammonium verwandt.

Nach mehrfachen Versuchen habe ich gefunden, dass die beste Ausbeute erzielt wird, wenn die zur Verwendung kommenden Reagentien in gleichen Aequivalenten angewendet werden. Die berechnete Menge Anilin wird in zwei Theilen absoluten Alkohols gelöst und dazu die nöthigen Quantitäten Rhodanammonium und Monochloressigsäure zugefügt und in einem Kolben auf dem Wasserbade erwärmt. Nach einiger Zeit beginnt eine lebhafte Reaction, die Masse fängt an zu sieden und es entweicht Gas, das hauptsächlich aus Rhodanwasserstoffsäure zu bestehen scheint. Noch warm beginnt die Ausscheidung von Krystallen, die beim Abkühlen zunimmt, bis zuletzt Alles zu einer festen Krystallmasse erstarrt. Dieselbe wird aufs Filter gebracht und so lange mit Wasser gewaschen, bis aller Salmiak entfernt ist, also das Filtrat nicht mehr auf Chlor reagirt. In dem Filtrat wurde nur Salmiak gefunden.

Der Filterrückstand wurde zwischen Fliesspapier ausgepresst und getrocknet. Er stellt so in diesem rohen Zustande eine gelblichweisse krystallinische Masse dar. Schwierigkeiten bereitete mir die Reinigung der Krystalle. Allerdings haben sie die gute Eigenschaft, in kaltem Wasser fast unlöslich zu sein, dagegen ziemlich leicht löslich in heissem Wasser; jedoch ist es mir nie gelungen, sie aus Wasser rein zu erhalten. Nach noch so häufigem Umkrystallisiren erschienen dieselben unter dem Mikroskop doch immerhin nicht homogen, und es wurden bei der Analyse nie gut stimmende Zahlen erhalten. Ja im Gegentheil, je öfter aus Wasser umkrystallisirt wurde, um so weniger gute Zahlen wurden erhalten. Möglich, dass die Substanz durch kochendes Wasser theilweise zersetzt wird. Da die Krystalle auch in Alkohol löslich sind und beim Erkalten daraus krystallisiren, krystallisirte ich wiederholt aus absolutem Alkohol; aber auch so erhielt ich nicht gut stimmende Zahlen. Auch in heisser Essigsäure sind sie löslich und scheiden sich beim Erkalten in schönen glänzenden Nadeln ab; jedoch erhält man kein reines Product auf diesem Wege, was sich schon unter dem Mikroskop zu erkennen gab und durch die Analysen bestätigt wurde.

Schliesslich gelang es mir, ein Verfahren zu finden, um ein reines Product zu erhalten. Die Schwerlöslichkeit der Substanz in Aether wurde zur Reinigung benutzt. Ich krystallisirte das Rohproduct mehrmals aus absolutem Alkohol um, kochte dann die trockenen Krystalle mit Aether aus, filtrirte heiss und wusch mit heissem Aether nach. So gelang es mir, ein vollkommen reines Product zu erhalten, allerdings unter grossen Verlusten, da viel der Substanz in Aether in Lösung geht.

Die Analysen so gereinigter Krystalle führten zu folgenden Resultaten:

1. 0.3903 g der bis zum constanten Gewicht getrockneten Substanz, mit chromsaurem Blei verbrannt, gaben 0.7416 g $CO_2$ und 0.1743 g $H_2O$ oder 51.81 Proc. C und 4.96 Proc. H.

0.3984 g gaben 48 ccm N-Gas bei 13.5° und 710 mm Barometerstand oder 13.24 Proc. N.

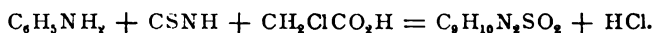
0.2424 g nach der Methode von Carius im zugeschmolzenen Rohre mit Salpetersäure erhitzt, gaben 0.2698 g $BaSO_4$ oder 0.03701 g S, entsprechend 15.30 Proc. S.

2. 0.2818 g gaben 0.5273 g $CO_2$ und 0.1313 g $H_2O$ oder 51.03 Proc. C und 5.17 Proc. H.

Aus diesen Zahlen berechnet sich eine Formel $C_9H_{10}N_2SO_2$, dieselbe verlangt:

| Berechnet: | | | Gefunden: I. | II. |
|---|---|---|---|---|
| $C_9$ | = 108 | 51.42 Proc. | 51.81 Proc. | 51.03 Proc. C |
| $H_{10}$ | = 10 | 4.76 „ | 4.96 „ | 5.17 „ H |
| $N_2$ | = 28 | 13.33 „ | 13.24 „ N | — |
| S | = 32 | 15.23 „ | 15.26 „ S | — |
| $O_2$ | = 32 | 15.26 „ | — | — |
| | | 100.00 | | |

Anilin plus Rhodanwasserstoffsäure plus Monochloressigsäure minus einem Molekül Salzsäure giebt die berechnete Formel:

$$C_6H_5NH_2 + CSNH + CH_2ClCO_2H = C_9H_{10}N_2SO_2 + HCl.$$

Was die Eigenschaften der neuen Substanz betrifft, so ist sie, wie schon angeführt, in kaltem Wasser fast unlöslich, dagegen ziemlich leicht löslich in heissem Wasser. Ist die Substanz nicht ganz rein, so trübt sich die heisse wässerige Lösung beim Erkalten milchig und erst später scheiden sich die Krystalle aus, während vollkommen reine Substanz ganz klar auskrystallisirt. Die aus Wasser, sowie auch aus Alkohol und Essigsäure erhaltenen Krystalle erschienen unter dem Mikroskop in langen abgeplatteten Säulen, wie mir scheint, des rhombischen Systems. In Aether sind die Krystalle schwer löslich, jedoch nicht unlöslich. Die wässerige Lösung reagirt schwach sauer; irgend ein Salz darzustellen, ist mir aber nicht gelungen.

Ich hatte gehofft, durch Kochen mit concentrirter Essigsäure ein Acetylsubstitutionsproduct zu erhalten; dies ist aber nicht der Fall, die concentrirte Essigsäure ist ohne Einwirkung auf die Substanz. Ebenso auch Essigsäureanhydrid, damit gekocht, krystallisirt die Substanz auf Zusatz von Wasser wieder unverändert aus. Auch mit stärkeren Säuren, sowie mit Alkalien zersetzt sich die Substanz erst bei längerem Kochen. Mit Eisensalzen färbt sie sich tief gelb. Durch concentrirte Salpetersäure wird sie heftig oxydirt, und man erhält in geringer Menge ein gelbes amorphes Product, das nicht weiter untersucht wurde.

Ganz analog dem Anilin verhält sich, wie von vornherein zu erwarten war, das Toluidin. Bringt man dasselbe — ich habe nur Versuche mit dem Paratoluidin, dem krystallinischen, angestellt — in gleichen Verhältnissen, wie bei Anilin angegeben wurde, mit Rhodanammonium und Monochloressigsäure in alkoholischer

Lösung zusammen und erwärmt, so tritt sehr bald Reaction ein. Nach dem Erkalten erstarrte die Masse zu einem Krystallbrei, welcher durch Waschen mit Wasser von Salmiak befreit wurde.

Was die Reindarstellung dieser Substanz betrifft, so ist hier dasselbe zu bemerken wie beim Anilinproduct. Wie dort erhält man nur ein reines Präparat, wenn man nach mehrmaligem Umkrystallisiren aus absolutem Alkohol mit heissem Aether wäscht. So gereinigte Substanz gab bei der Analyse folgende Zahlen:

0.2817 g der bis zum constanten Gewicht getrockneten Substanz, mit chromsaurem Blei verbrannt, gaben 0,5482 g $CO_2$ und 0.1393 g $H_2O$ oder 53.07 Proc. C und 5.49 Proc. H.

0.3677 g gaben 42 ccm N-Gas bei 13.5° und 718 mm Barometerstand oder 12.65 Proc. N.

0.3783 g nach der Methode von Carius gaben 0.3967 g $BaSO_4$ oder 0.05448 g S entsprechend 14.40 Proc. S.

0.4104 g gaben 0.8093 g $CO_2$ und 0.2008 g $H_2O$ oder 53.72 Proc. C und 5.43 Proc. H.

Die Formel $C_{10}N_{12}N_2SO_2$ verlangt:

| Berechnet: | | | Gefunden: I. | Gefunden: II. |
|---|---|---|---|---|
| $C_{10}$ | = 120 | 53.57 Proc. C | 53.07 Proc. | 53.72 Proc. C |
| $H_{12}$ | = 12 | 5.35 „ H | 5.49 „ | 5.43 „ H |
| $N_2$ | = 28 | 12.50 „ N | 12.65 „ N | — |
| S | = 32 | 14.28 „ S | 14.40 „ S | — |
| $O_2$ | = 32 | 14.30 „ O | — | — |
| | 224 | 100.00 | | |

In seinen Eigenschaften gleicht dieses Toluylproduct ausserordentlich dem aus Anilin. Die Krystalle sind von dem letzteren kaum zu unterscheiden, wie dieses krystallisirt es in plattenförmigen Säulen des rhombischen Systems. Ist es nicht vollkommen rein, so trübt sich die wässerige Lösung ebenfalls ganz milchig, was bei reiner Substanz nicht der Fall ist. In Wasser sowohl wie auch in Alkohol ist es schwerer löslich als das Anilinproduct. In Essigsäure und Essigsäureanhydrid löst es sich wie jenes unverändert und krystallisirt daraus in langen glänzenden Nadeln. Sein Schmelzpunkt schwankt zwischen 176 bis 182°, es scheint sich zu zersetzen und deshalb der Schmelzpunkt kein constanter zu sein.

Darin gleicht ihm übrigens das Anilinproduct auch, dessen Schmelzpunkt zwischen 148° bis 152° schwankt. Höher erhitzt entweichen bei beiden massenhafte Essigsäuredämpfe.

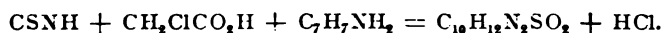
In Aether geht wie beim Anilinproduct ein Theil in Lösung. Um mich zu überzeugen, ob das in Aether lösliche Product ein anderes sei oder nur dasselbe, aber verunreinigt, habe ich eine Analyse davon gemacht. Der Aether wurde zum grössten Theile abdestillirt und dann die Substanz auskrystallisiren gelassen, abfiltrirt, zwischen Fliesspapier ausgepresst und über Schwefelsäure getrocknet.

0.2814 g der trockenen Substanz gaben, mit chromsaurem Blei verbrannt, 0.5570 g $CO_2$ und 0.1462 g $H_2O$ und hinterliessen 0.0014 g Asche; dies entspricht nach Abzug der Asche 54.25 Proc. C und 5.80 Proc. N.

Aus diesen Zahlen, die sich nur um ein Geringes von denen der reinen in Aether nicht übergegangenen Substanz unterscheiden, sowie aus dem ganzen Verhalten und den Eigenschaften dieser in Aether übergegangenen Krystalle geht zur Genüge hervor, dass man hier in der Hauptsache dasselbe Product hat, nur verunreinigt mit einer kohlenstoffreicheren Verbindung. Möglich, dass diese Verunreinigungen von Spuren unveränderten Toluidins resp. Anilins herrühren, die auf andere Weise schwer zu entfernen sind.

Gegen Eisensalze, Salpetersäure verhält sich das Toluidinproduct wie das Anilinproduct. Seine wässerige Lösung reagirt ebenfalls sauer, Salze sind nicht zu erhalten.

Der Vorgang bei der Bildung der Substanz verläuft hier natürlich analog wie beim Anilin; es treten je ein Molekül der angewandten Reagentien zusammen zur Bildung der neuen Substanz unter Austritt von Salzsäure:

$$CSNH + CH_2ClCO_2H + C_7H_7NH_2 = C_{10}H_{12}N_2SO_2 + HCl.$$

Auch hier konnte in der wässerigen Lauge nichts weiter als Salmiak nachgewiesen werden.

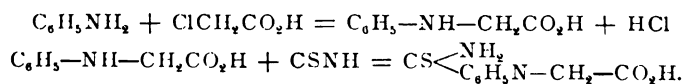
Was also die Entstehung dieser merkwürdigen schwefelhaltigen Substanzen anbelangt, so ist dieselbe, wie man sieht, sehr einfach, schwieriger ist die Frage nach der Constitution derselben. Dass diese Verbindungen in keiner Beziehung zur Rhodaninsäure stehen, ist klar.

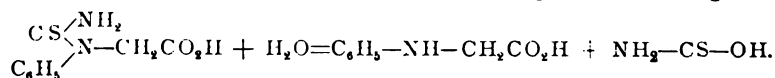
Man kann sich allerdings, gestützt auf die Entstehung der Körper, Vorstellungen von der Constitution derselben machen; jedoch ist sicher, dass, um die Structur zu erkennen, erst das Verhalten der Substanzen gegen Reagentien, sowie ihre Spaltungsproducte erforscht werden müssen.

Ich war nun in dieser Richtung hin bemüht, diese Verbindungen zu untersuchen, jedoch ist das ganze Verhalten dieser Substanzen nicht sehr günstig dafür. Ich hatte z. B. gehofft, durch Essigsäureanhydrid ein Acetylsubstitutionsproduct zu erhalten, dass aber dadurch keine Acetylirung stattfindet, habe ich schon angeführt. So auch ist Chlor und Brom ohne Einwirkung auf dieselben. Durch concentrirte Salpetersäure werden sie oxydirt, oder jedenfalls nitrirt, jedoch ist die Zersetzung hier eine sehr weitgehende und dann das Oxydationsproduct von so schlechten Eigenschaften, dass mir eine nähere Untersuchung desselben nicht möglich war.

Man könnte die Reaction so auffassen, dass in erster Instanz durch Einwirkung der Monochloressigsäure auf Anilin, resp. Toluidin, Phenylglycocoll entsteht, welches sich dann mit Sulfocyanwasserstoffsäure umlagern könnte in Phenylglycocollsulfoharnstoff, wie folgende Gleichungen veranschaulichen:

$$C_6H_5NH_2 + ClCH_2CO_2H = C_6H_5{-}NH{-}CH_2CO_2H + HCl$$

$$C_6H_5{-}NH{-}CH_2CO_2H + CSNH = CS{<}\begin{matrix}NH_2 \\ C_6H_5N{-}CH_2{-}CO_2H.\end{matrix}$$

War meine Auffassung richtig, so musste sich die Substanz bei längerer Einwirkung verdünnter Säuren oder auch Alkalien unter Aufnahme von Wasser spalten in Phenylglycocoll und Sulfooxycarbaminsäure nach folgender Gleichung:

$$\begin{matrix}CS\diagup NH_2 \\ \diagdown \\ C_6H_5\diagup\end{matrix} N{-}CH_2CO_2H + H_2O = C_6H_5{-}NH{-}CH_2CO_2H + NH_2{-}CS{-}OH.$$

Die Sulfooxycarbaminsäure würde sich allerdings, wenigstens war dies anzunehmen, weiter zersetzt haben. Phenylglycocoll unter den Spaltungsproducten nachzuweisen, dürfte jedenfalls keine Schwierigkeiten darbieten. Dasselbe ist ja schon dargestellt und beschrieben worden.

Zu diesem Zwecke wurde ein Theil des Anilinproductes — natürlich verwandte man nur reines Präparat — mit zehn Theilen 20 procentiger Schwefelsäure in einem Kolben mit rückfliessendem Kühler ungefähr drei Stunden lang gekocht, nach dem Erkalten filtrirt und mehrere Stunden in der Kälte stehen gelassen. Wäre noch unveränderte Substanz zugegen gewesen, so hätte sie sich in Folge ihrer Schwerlöslichkeit abscheiden müssen. Dies war jedoch nicht der Fall, es krystallisirte durchaus nichts aus, die Flüssigkeit blieb vollständig klar.

Die Lauge wurde nun durch Verdampfen auf dem Wasserbade etwas concentrirt, alsdann mit Aetzbaryt bis fast zur Neutralisation versetzt, vom schwefelsauren Baryt abfiltrirt und das Filtrat von Neuem verdampft. Nachdem etwas mehr als die Hälfte verdampft war, bildete sich eine Krystallhaut. Man liess erkalten und auskrystallisiren. Die Krystalle wurden abfiltrirt, mit Wasser etwas gewaschen, getrocknet und aus Wasser wieder umkrystallisirt. Da sie unter dem Mikroskop vollständig homogen erschienen, wurden sie direct der Analyse unterworfen.

0.2979 g der trockenen Substanz gaben, mit Kupferoxyd verbrannt, — ich hatte mich vorher überzeugt, dass die Substanz schwefelfrei war — 0.6765 g $CO_2$ und 0.1668 g $H_2O$, und hinterliessen 0.0008 g Asche, dies entspricht nach Abzug der Asche 62.10 Proc. C und 6.21 Proc. H.

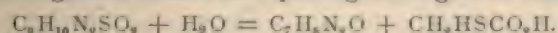
0.1503 g gaben 28.5 ccm N-Gas bei 14° und 707 mm Barometerstand oder 20.70 Proc. N.

Die gefundenen Zahlen stimmen nicht auf Phenylglycocoll, sondern auf eine Formel $C_7H_8N_2O$. Wie man sieht, entspricht diese Formel einem Harnstoff, in welchem ein Wasserstoff durch die Phenolgruppe ersetzt ist, also dem Monophenylharnstoff.

Die Formel $C_7H_8N_2O$ verlangt:

| Berechnet: | | Gefunden: |
|---|---|---|
| $C_7 = 82$ | 61.76 Proc. | 62.10 Proc. C |
| $H_8 = 8$ | 5.88 „ | 6.21 „ H |
| $N_2 = 28$ | 20.58 „ | 20.70 „ N |
| $O = 16$ | 11.76 „ | — O |
| | 99.98 | |

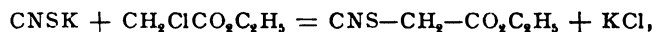
Nach diesem Ergebniss müsste die Spaltung im folgenden Sinne verlaufen:

$$C_9H_{10}N_2SO_2 + H_2O = C_7H_8N_2O + CH_2HSCO_2H.$$

$CH_2HSCO_2H$ wäre aber Sulfoglycolsäure. Dass dieselbe bei dieser Reaction allerdings entsteht, soll weiter unten gezeigt werden.

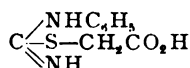
Auf Grund dieser Zersetzung ist nach meiner Ansicht folgende Erklärung der bei der Einwirkung von Monochloressigsäure auf rhodanwasserstoffsaures Anilin stattfindenden Reaction die wahrscheinlichste. Heintz[1]) hat in seiner Arbeit über den

[1]) Heintz, Ann. Chem. Pharm. **136**, 223.

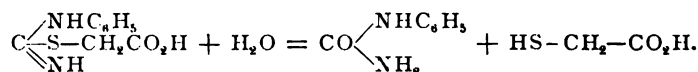
Sulfocyanessigsäureäther gefunden, dass durch Einwirkung des Monochloressigäthers auf Rhodankalium in alkoholischer Lösung der Aether der Sulfocyanessigsäure entsteht:

$$CNSK + CH_2ClCO_2C_2H_5 = CNS{-}CH_2{-}CO_2C_2H_5 + KCl,$$

welcher durch Säuren oder Alkalien leicht in Alkohol und Sulfocyanessigsäurehydrat gespalten wird.

Der bei der Einwirkung der Monochloressigsäure auf rhodanwasserstoffsaures Anilin entstehende Körper hat die Zusammensetzung des sulfocyanessigsauren Anilins. Dass er aber nicht einfach sulfocyanessigsaures Anilin sein kann, geht daraus hervor, dass die Lösung dieses Körpers, mit Kalilauge versetzt, kein Anilin abscheidet, auch beim Erwärmen nicht. Die Bildung dieser Substanz, sowie ihr Verhalten gegen Säuren berechtigen dagegen zu der Annahme, dass ihr die Structurformel:

$$C\begin{cases} NHC_6H_5 \\ S{-}CH_2CO_2H \\ NH \end{cases}$$

zukommt, dass sie also eine Phenylcarbodiimidosulfoessigsäure ist.

Diese Verbindung zersetzt sich also durch Einwirkung verdünnter Säuren unter Aufnahme von Wasser in Phenylcarbamid und Sulfoglycolsäure:

$$C\begin{cases} NHC_6H_5 \\ S{-}CH_2CO_2H \\ NH \end{cases} + H_2O = CO\begin{cases} NHC_6H_5 \\ NH_2 \end{cases} + HS{-}CH_2{-}CO_2H.$$

A. W. Hofmann hat den Monophenylharnstoff zuerst dargestellt und beschrieben. Er erhielt ihn durch Vermischen von schwefelsaurem Anilin mit cyansaurem Kali[1]), dann auch durch Einwirkung von Chlorcyan auf Anilin bei Gegenwart von Wasser und durch Einleiten des Dampfes von Cyansäurehydrat in wasserfreies Anilin[2]). Er beschreibt diesen Körper als in Nadeln krystallisirend, wenig löslich in kaltem Wasser, leicht löslich in heissem Wasser, in Alkohol und Aether, von nicht basischen Eigenschaften, keine Salze bildend.

Die von mir erhaltene Substanz krystallisirt in breiten plattenförmigen Säulen mit sehr gezackten Rändern, ist in kaltem Wasser schwer löslich, dagegen leicht löslich in heissem Wasser, Alkohol und Aether, schmilzt ohne Zersetzung bei 135° (uncorr.). Hat keine basischen Eigenschaften. Alles dies würde mit dem von Hofmann dargestellten Phenylharnstoff übereinstimmen.

Das andere Spaltungsproduct wurde aus der Lauge erhalten. Leider hatte ich zu wenig Material, um es genau zu untersuchen. Jedoch durch die Analyse des Barytsalzes desselben sowie nach seinen Eigenschaften glaube ich sicher annehmen zu dürfen, dass diese Substanz identisch ist mit der zuerst von Carius[3]) aus monochloressigsaurem Kali und Kaliumsulfhydrat dargestellten Sulfoglycolsäure.

Die von den Krystallen des Phenylharnstoffs abfiltrirte Lauge wurde zur vollständigen Neutralisation mit kohlensaurem Baryt gekocht, vom schwefelsauren Baryt abfiltrirt und das Filtrat auf dem Wasserbade verdampft bis zum Syrup. Derselbe

[1]) Hofmann, Ann. Chem. Pharm. **57**, 265.
[2]) Ebendaselbst **70**, 130.
[3]) Carius, daselbst **124**, 40.

erstarrt beim Erkalten zu einer weissen amorphen Masse. Ich löste letztere von Neuem in wenig Wasser und versetzte die Lösung im Ueberschuss mit absolutem Alkohol. Dadurch entsteht ein amorpher weisser, unter dem Mikroskop völlig homogen erscheinender Niederschlag. Er wurde abfiltrirt, getrocknet und der Analyse unterworfen. Folgende sind die Resultate der Analyse.

0.4753 g des trockenen Salzes, innig gemischt mit chromsaurem Blei, gaben 0.2630 g $CO_2$ und 0.0700 g $H_2O$ oder 15.09 Proc. C und 1.63 Proc. H.

0.3319 g nach der Methode von Carius behandelt, gaben 0.4715 g $BaSO_4$ oder 0.06475 g S, entsprechend 19.51 Proc. S.

0.3887 g in Wasser gelöst und mit Schwefelsäure gefällt, gaben 0.2803 g $Ba SO_4$ oder 0.1648 g Ba entsprechend 41.40 Proc. Ba.

Das sulfoglycolsaure Baryum $(CH_2HSCO_2)_2$ Ba verlangt:

| Berechnet: | | Gefunden: |
|---|---|---|
| $C_4$ = 48 | 15.05 Proc. | 15.09 Proc. C |
| $H_6$ = 6 | 1.85 „ | 1.63 „ H |
| $S_2$ = 64 | 20.06 „ | 19.51 „ S |
| Ba = 137 | 42.94 „ | 42.40 „ Ba |
| $O_4$ = 64 | 20.10 „ | — |
| | 100.00 | |

Eine Lösung des Baryumsalzes gab, mit essigsaurem Blei versetzt, einen körnigen amorphen Niederschlag, sehr schwer, fast unlöslich in kaltem, wie auch in heissem Wasser. Mit salpetersaurem Silber giebt die Lösung des Baryumsalzes einen ähnlichen Niederschlag. Eine Probe des Bleisalzes mit Schwefelwasserstoff versetzt, die filtrirte Lauge zum grössten Theil auf dem Wasserbade verdampft, dann über Schwefelsäure unter die Luftpumpe gestellt, lieferte eine zähe, fast gummiartige Masse, welche in Wasser und Alkohol leicht löslich ist. Die Lösungen reagiren sauer. Alle diese Eigenschaften, sowohl die der Salze als auch die der freien Säure, stimmen mit den von Carius angegebenen überein. Demnach, sowie nach den gefundenen Zahlen des Baryumsalzes ist wohl kein Zweifel an der Identität beider Substanzen.

Das Toluylproduct in gleicher Weise mit verdünnter Schwefelsäure behandelt, verhielt sich, wie vorauszusehen, analog dem Phenylproduct. Der erhaltene Toluylharnstoff gleicht in seinen Eigenschaften sehr dem Phenylharnstoff. Wie dieser ist er in kaltem Wasser fast unlöslich, dagegen leicht löslich in heissem Wasser, Alkohol und Aether, jedoch schwerer als der Phenylharnstoff. Er krystallisirt in dicken, breiten, gezackten Säulen, die schwach süss schmecken. Seinen Schmelzpunkt fand ich bei 182° (uncorr.). Sell[1]), der den Toluylharnstoff durch Zersetzung des schwefelsauren Toluidins mittelst frisch bereiteter Lösung von cyansaurem Kalium erhielt, giebt an, dass derselbe, der trockenen Destillation unterworfen, bei 158° schmilzt. Den Toluylharnstoff hat er, wie auch ich, aus dem festen Toluidin bereitet.

Ein aus Wasser einmal umkrystallisirtes Product führte bei der Analyse zu folgenden Zahlen.

0.2282 g der trockenen Substanz gaben 0.5354 g $CO_2$ und 0.1394 g $H_2O$ oder 63.98 Proc. C und 6.78 Proc. H.

---

[1]) Sell, Ann. Chem. Pharm. **126**, 158.

0.2275 g gaben 0.5332 g $CO_2$ und 0.1484 g $H_2O$ oder 63.91 Proc. C und 7.24 Proc. H.

0.2433 g gaben 41 ccm N-Gas bei 15° und 721 mm Barometerstand oder 18.67 Proc. N.

Die Formel des Toluylharnstoffes $C_8H_{10}N_2O$ verlangt:

| Berechnet: | | Gefunden: I. | II. |
|---|---|---|---|
| $C_8 = 96$ | 64.00 Proc. C | 63.98 Proc. | 63.91 Proc. C |
| $H_{10} = 10$ | 6.66 „ H | 6.78 „ | 7.24 „ H |
| $N_2 = 28$ | 18.66 „ N | — | 18.67 „ N |
| $O = 16$ | 10.67 „ O | — | — |
| | 99.99 | | |

Aus der Lauge wurde wie beim Phenylproduct Sulfoglycolsäure erhalten.

Ich hätte gern die Untersuchungen weiter fortgesetzt, da ich aber gegenwärtig daran gehindert bin, wollte ich wenigstens die schon erhaltenen Resultate veröffentlichen. Später jedoch gedenke ich diese Untersuchungen wieder aufzunehmen.

Bern, Laboratorium des Herrn Prof. Nencki.

---

# Eiweisskörper

von

**M. Nencki.**

Artikel im Handwörterbuche der Chemie von H. Fehling (Braunschweig) 2, 1137.

Blutbilder, Proteïnsubstanzen. Zu den complexesten in der Natur vorkommenden organischen Substanzen gehören die Eiweissstoffe. Ihr Molekül wird aber unter Mitwirkung der Sonne im Leibe der Pflanzen aus den einfachsten Verbindungen: wie Kohlensäure, Wasser, stickstoffhaltigen unorganischen Salzen, Phosphaten und Sulfaten aufgebaut. Sie sind sowohl in pflanzlichen wie in thierischen Säften und Zellinhalt enthalten. Von den thierischen Flüssigkeiten sind im normalen Zustande frei von Eiweiss: Harn, Schweiss, Galle und Thränen. Während die Zellwand der Pflanzen aus Cellulose besteht, sind die einfachsten thierischen Membrane und Zellwandungen aus Eiweisssubstanzen gebildet. Man kann allerdings bei den thierischen Zellen nicht in gleichem Sinne wie bei den Pflanzenzellen die Wandung dem Zellinhalt entgegenstellen. Bei den meisten thierischen Zellen ist im Leben eine Membran nicht sicher nachzuweisen, und es ist zweifelhaft, ob sie überhaupt eine Wandung haben. Dagegen kann man an dem thierischen Ei in frischem Zustande um den Zellinhalt eine Membran, wahrscheinlich

aus der *Membrana granulosa*, auf das Ei aufgelagert, leicht sehen. Ebenso an den verhornten Epidermiszellen (Keratinzellen) sowie Fettzellen ist eine Membran sicher vorhanden. Aus der Resistenz dieser Membrane, die die Reactionen der Eiweisskörper zeigen, gegen Säuren und Alkalien lässt sich vermuthen, dass sie aus Elastin bestehen.

Die Eiweissstoffe werden hauptsächlich im Körper der Pflanzen gebildet, im thierischen Organismus dagegen wieder in einfache Verbindungen zerlegt. Obgleich aber der Thierkörper zu seiner Existenz der Zufuhr des pflanzlichen Eiweisses nothwendig bedarf, kann er nicht als ein ausschliesslich oxydirendes Agens aufgefasst werden. Das dem Thierkörper zugeführte pflanzliche Eiweiss wird in ihm theils in einfachere Verbindungen zerlegt und verbrannt, theils dagegen eigenthümlich modificirt, oder, zu noch complexerem Molekül aufgebaut, zum Aufbau seiner eigenen Leibessubstanz verwendet. Das Hämoglobin z. B. zerfällt in Eiweiss und Hämatin (s. Art. Blut **2**, 110. — Dieser Band S. 125), der thierische Schleimstoff (das Mucin) in Eiweiss und Glucose. Die thierischen Bindegewebssubstanzen (die leimgebenden Stoffe) werden erst im thierischen Organismus gebildet. Welche chemischen Veränderungen das als Nahrung dienende thierische oder pflanzliche Eiweiss erleidet, bevor es zum organisirten Gewebsbestandtheil des Thierleibes wird, wissen wir in den meisten Fällen nicht. Doch das ist sicher, dass die dabei stattfindenden chemischen Processe zum guten Theil synthetischer Natur sind. Die Ansicht Liebig's[1]), dass die verschiedenen Albuminstoffe: wie das Fibrin, Caseïn, das Vitellin des Pflanzen- und des Thierreiches identisch sind, ist durch fortgesetzte Untersuchungen und genauere Kenntniss der einzelnen Eiweissstoffe nicht bestätigt worden. Unrichtig ist auch die Ansicht Gerhardt's[2]), dass die Verschiedenheit der zahlreichen Proteïnsubstanzen nur durch die Beimengung von schwer zu entfernenden unorganischen Bestandtheilen bedingt werde. Bei dem hohen Molekulargewicht, bei der Schwierigkeit, die Eiweisskörper rein zu isoliren, und bei ihrer grossen Aehnlichkeit im chemischen und physikalischen Verhalten ist es beim jetzigen Stande unserer analytischen Methoden in vielen Fällen nicht möglich, zu entscheiden, ob Eiweisssubstanzen verschiedenen Ursprungs mit einander identisch sind und ihre geringen Differenzen im chemischen und physikalischen Verhalten nur durch die Verunreinigung, meistentheils durch Aschenbestandtheile bedingt sind, oder ob die betreffenden Eiweisssubstanzen wirklich von einander verschieden oder isomer sind. Dass aber die meisten als besondere chemische Individuen verzeichneten Proteïnsubstanzen wirklich von einander verschieden sind, geht schon daraus hervor, dass man einige von ihnen völlig, andere doch nahezu frei von Mineralbestandtheilen darstellen kann, ohne dass sie deshalb in ihren Eigenschaften identisch erscheinen, und dass sie mit den gleichen Reagentien und unter den gleichen Bedingungen behandelt qualitativ oder quantitativ verschiedene Spaltungsproducte liefern.

Allgemeines chemisches Verhalten der Eiweisskörper. Die verschiedenen Eiweisssubstanzen bestehen aus Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Sauerstoff

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **39**, 129.

[2]) Org. Chem. **4**, 461, deutsch von Wagner.

und Schwefel, und zwar 50.4 bis 54.8 Proc. C, 7.3 bis 6.8 Proc. H, 15.4 bis 18.2 Proc. N, 24.1 bis 22.8 Proc. O und 0.4 bis 1.8 Proc. S. Die thierischen Schleimstoffe enthalten keinen Schwefel und haben bedeutend niedrigeren Stickstoffgehalt. Schwefelfrei ist ferner das Elastin.

Die Eiweissstoffe, wie sie durch Verdunstung ihrer wässerigen Lösung beim Verdampfen unter 50° hinterbleiben oder durch Siedhitze aus ihrer Lösung gefällt werden, sind amorph, im trockenen Zustande meistens durchscheinende, hornartige, dem arabischen Gummi ähnliche Massen, geruch- und geschmacklos, theils löslich, theils unlöslich in Wasser, meistentheils unlöslich in Weingeist, unlöslich in Aether, meistentheils löslich in verdünnten überschüssigen Säuren oder Alkalien. Die wässerige Lösung der Albuminkörper ist neutral. Sie dreht das polarisirte Licht stets nach links. Aus ihren Lösungen werden die Albuminstoffe gefällt: 1. Durch starke überschüssige Mineralsäuren. 2. Durch Essigsäure oder etwas Salzsäure und Ferrocyankalium. 3. Bewirken organische Säuren, wie z. B. Essig-, Wein-, Citronensäure, in Albuminlösungen keine Fällung, setzt man jedoch zu diesen Lösungen Alkalisalze, wie z. B. Chlornatrium, Glaubersalz u. a. in concentrirter Lösung, so scheidet sich das Eiweiss in Flocken aus (Panum[1]). 4. Durch viele organische Substanzen, wie z. B. Chloral, Phenol, Pikrinsäure, werden die meisten Albuminkörper gefällt; auch durch Dextrinlösungen oder arabischen Gummi im Ueberschuss wird Eiweiss aus seiner Lösung gefällt (Günsberg[2]). 5. Durch pulveriges kohlensaures Kali fast bis zur Sättigung in die eiweisshaltige Flüssigkeit eingetragen (Hoppe-Seyler[3]). 6. Durch viele Metallsalze, so namentlich durch die Lösungen von Kupfer, Blei, Quecksilber und Silber. 7. Durch Gerbsäure. 8. Durch Alkohol.

Um sehr geringe Mengen von Eiweissstoffen in Flüssigkeiten nachzuweisen, hat Millon[4]) ein sehr scharfes Reagens angegeben. Ein Theil Quecksilber wird im gleichen Gewichte starker Salpetersäure Anfangs in der Kälte, zuletzt unter mässigem Erwärmen gelöst, sodann die salpetersaure Lösung mit dem doppelten Volumen Wasser versetzt und nach mehrstündigem Stehen die klare Flüssigkeit vom krystallinischen Niederschlage abgegossen. Diese Flüssigkeit färbt Lösungen, die Spuren von Eiweiss bis $1/_{10000}$ Proc. enthalten, besonders beim Erwärmen bis zum Kochen, roth. In Berührung mit concentrirter Schwefelsäure nehmen die Eiweisskörper auf Zusatz von Zuckerlösung eine Anfangs rothe, später violettrothe Farbe an (Schultze[5]). Kupfervitriollösung giebt bei Gegenwart von Alkali mit Eiweissstoffen eine schön violette Färbung. Die Reaction tritt nicht ein, wenn Alkali vor dem Kupfersulfat zu der Eiweisslösung zugesetzt wurde. Feste Körper betupft man mit Kupfervitriollösung, hierauf mit Kalilauge und spült das überschüssige Kupferoxydhydrat mit Wasser ab, worauf sie violett gefärbt erscheinen (Piotrowski[6]). Eiweisskörper oder Peptone nehmen, nachdem sie in einem Ueberschuss von Eisessig gelöst worden

[1]) Virchow's Archiv **3**, Heft 2; **4**. Heft 4.
[2]) Chem. Centr. 1863, S. 460; 1865, S. 72.
[3]) Phys. u. path.-chem. Analyse. Berlin 1870, S. 102.
[4]) Compt. rend. **28**, 40.
[5]) Ann. Chem. Pharm. **71**, 283.
[6]) Wien. Akad. Ber. **24**, 335.

sind, beim Hinzufügen concentrirter Schwefelsäure sehr schöne violette Farbe und schwache Fluorescenz an und zeigen bei geeigneter Concentration im Spectrum eine Absorption, die wie diejenige des Harnfarbstoffes (Urobilin) zwischen den Fraunhofer'schen Linien *b* und *F* liegt (Adamkiewicz[1]). Von concentrirter heisser Salzsäure werden die Eiweisskörper mit blauer Farbe gelöst, die nachher ins Braune übergeht (Caventou). Charakteristisch ist auch die Gelbfärbung beim Erhitzen eiweisshaltiger Flüssigkeiten mit concentrirter Salpetersäure und nachherige Orangefärbung durch Aetzalkalienzusatz (Xanthoproteïnsäurereaction). Einigermaassen grössere Eiweissmengen werden in Flüssigkeiten am besten durch die eintretende Gerinnung beim Kochen nachgewiesen. Ist die Flüssigkeit alkalisch, so muss sie mit stark verdünnten Säuren unter Vermeidung des Ueberschusses neutralisirt werden. Entsteht so beim Kochen ein Niederschlag, der durch Zusatz von Salpetersäure nicht gelöst wird, so ist die Flüssigkeit eiweisshaltig. Wird der durch Kochen entstandene Niederschlag durch Salpetersäure aufgelöst, wie z. B. im Harne, so war der gelöste Niederschlag phosphorsaurer Kalk (menschlicher Harn) oder kohlensaurer Kalk (Pflanzenfresserharn).

## I. Die Proteïnsubstanzen der thierischen Säfte und des Zellinhaltes.

1. Das Eiereiweiss. Das Eiweiss ist in den Eiern in ein Fächerwerk von feinen Membranen eingeschlossen. Durch Schlagen des Weissen der Vogeleier unter Wasser wird das Eiweiss gelöst, während die Membrane als Häute sich absetzen. Die durch Leinwand davon filtrirte Eiweisslösung ist geschmack- und geruchlos, fadenziehend, schwach opalescirend, sehr schwach alkalisch, fast neutral, und lenkt die Polarisationsebene nach links ab, $\alpha = -35.5^0$ (Bouchardat[2]). Bis auf 75° erhitzt gerinnen die Lösungen vollkommen. Nach A. Gautier[3]) enthält das Weisse des Vogeleies zum mindesten zwei verschiedene Eiweisskörper. Der eine bei 63° gerinnende hat den Drehungswinkel $\alpha = -43^0$. Der andere bei 74° gerinnende hat $\alpha = -26^0$. Das Albumin in den Eiern verschiedener Vögel scheint nicht identisch zu sein (Valenciennes und Frémy[4]). Man erhält aus den Vogeleiern etwa 12 Proc. trockenes Eiweiss.

Das Eiweiss aus Hühnereiern bereitete Scherer[5]) folgendermaassen: das Weisse der Eier wurde auf flachen Tellern der Luft ausgesetzt, um das Wasser desselben zu verdunsten. Nachdem es eingetrocknet, wurde es pulverisirt und mit destillirtem Wasser bei 30° digerirt. So löste sich das Eiweiss mit Hinterlassung der Zellhäute, wovon abfiltrirt und das Filtrat mit kochendem Alkohol gefällt wurde. Der Niederschlag, mit Alkohol und Aether ausgekocht, ward sodann bei 100° getrocknet. Das so dargestellte Eiweiss enthält noch Aschenbestandtheile. Um es davon frei

[1]) Deutsch. chem. Gesellschaft **8**, 761.
[2]) Histoire générale des matières albuminoides par G. Bouchardat. Paris 1872, p. 58.
[3]) Bull. soc. chim. **14**. 177. 1870.
[4]) Ann. chim. phys. [3] **50**, 138.
[5]) Ann. Chem. Pharm. **40**, 34.

zu erhalten, wird es nach dem Ansäuern mit Essigsäure der Dialyse unterworfen, wobei reines Albumin zurückbleibt (Graham[1]). Wurtz[2]) vertheilte das Weisse von Eiern in dem doppelten Volumen Wasser und filtrirte, um die Zellhäute abzuscheiden, durch Leinwand ab. In die filtrirte Lösung wird nun ein wenig basischessigsaures Blei gegossen, welches einen reichlichen Niederschlag hervorbringt. Man muss einen Ueberschuss der Bleilösung vermeiden, da sich sonst der Niederschlag auflösen würde. Der ausgewaschene Niederschlag wird in Wasser zu einem Brei vertheilt und Kohlensäure eingeleitet, das Bleialbuminat wird dadurch zerlegt. Das entstandene kohlensaure Blei bleibt suspendirt, während das frei gewordene Albumin sich in Wasser auflöst. Man filtrirt die Flüssigkeit durch ein mit Säure ausgewaschenes Filter, um einen albuminösen Niederschlag zu entfernen. Das filtrirte Eiweiss ist noch nicht rein, es enthält Spuren von Blei. Um dieses zu entfernen, giebt man einige Tropfen Schwefelwasserstoffwasser hinzu. Die Flüssigkeit bräunt sich, bleibt aber durchsichtig, denn das Schwefelblei fällt nicht nieder. Um es abzuscheiden, erwärmt man die Flüssigkeit vorsichtig bis auf 60°, bis dieselbe trübe wird; die ersten Flocken des sich abscheidenden Eiweisses schliessen das Schwefelblei ein. Nach neuer Filtration ist die Flüssigkeit klar und farblos, sie wird in einer Schale bei 50° abgedampft. Der Rückstand stellt das lösliche Albumin im Zustande der Reinheit dar.

Das nach dem Verfahren von Graham und Wurtz dargestellte Eiereiweiss enthält keine wägbare Menge Asche, reagirt schwach sauer, fällt Caseïn und giebt mit Emulsin einen pulverigen Niederschlag, was nicht der Fall ist bei dem nicht gereinigten Eiereiweiss. Durch Hitze gerinnt es und geht in die unlösliche Modification über; ebenso durch Alkohol. Mit Salzsäure kann eine Eieralbuminlösung stark angesäuert werden, ohne zu coaguliren. Sie zeigt dann eine Steigerung der Circularpolarisation auf 37.7°; specifische Drehung für gelbes Licht. Fügt man aber mehr Salzsäure hinzu, so entsteht weissliche Trübung, dann flockiger Niederschlag, der aus einer in Wasser sehr schwer löslichen Verbindung von Salzsäure mit einem Albuminstoff besteht (Hoppe-Seyler[3]). Durch concentrirte Aetzalkalien wird Eiereiweiss in der Kälte in das Alkalialbuminat Lieberkühn's (s. dieses) übergeführt. Die Elementaranalysen des Eiereiweisses lieferten folgende Zahlen:

| | Scherer l. c. | Rühling[4]) (bei 140° getr.) | Hruschauer[5]) (durch Essigsäure gefällt) | Dumas und Cahours[6]) (bei 140° getr.) | Wurtz l. c. (bei 140° getr.) lösl. | coagul. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| C . . . . | 54.7 | 53.4 | 54.2—54.1 | 53.77 | 52.9 | 52.0 |
| H . . . . | 7.2 | 7.01 | 7.4—7.7 | 7.1 | 7.2 | 7.2 |
| N . . . . | 15.7 | — | 15.8 | 15.8 | 15.6 | 15.8 |
| S . . . . | — | 1.7—1.8 | — | — | — | — |

[1]) Royal Society 1861, p. 183.
[2]) Ann. chim. phys. [3] **12**, 217.
[3]) Handbuch der physiolog. und patholog.-chem. Analyse. Berlin 1870, S. 200.
[4]) Ann. Chem. Pharm. **58**, 301.
[5]) Ebendaselbst **46**, 348.
[6]) Ann. chim. phys. [3] **6**, 411.

Das Bluteiweiss, Serumeiweiss, Serin (Denis). Das Serumeiweiss findet sich reichlich im Blutserum (etwa 7 Proc.), in der Lymphe, im Chylus, in allen serösen Flüssigkeiten und Transsudaten, im Colostrum und später in minimaler Menge in der Milch (Lactoproteïn), in der Amniosflüssigkeit und tritt bei Nieren- und Herzkrankheiten meist allein von allen Albuminstoffen in den Harn über. Scherer[1]) stellte es aus dem Blutserum genau nach gleichem Verfahren wie das Eiereiweiss dar. Es kann auch wie das Eiereiweiss durch Diffusion von den unorganischen Salzen befreit werden. Das gereinigte Serumalbumin ist in trockenem Zustande hellgelblich, spröde, glasig, durchsichtig, hygroskopisch. In Wasser löslich, unlöslich in Alkohol und Aether; wird jedoch durch Aether aus seiner wässerigen Lösung nicht gefällt. In seinem übrigen Verhalten gleicht es dem Eiereiweiss, unterscheidet sich aber durch seine specifische Drehung. In der neutralen Lösung ist $\alpha = -56^{0}$ für Licht der Linie $D$ im Spectrum. Serumeiweiss, Hunden oder Kaninchen in die Venen oder unter die Haut injicirt, geht nicht in den Harn über, während das Eiereiweiss, in gleicher Weise injicirt, bald unverändert im Harne erscheint (Stokvis, Claude Bernard). Kali- oder Natronlauge selbst in geringer Menge verwandeln das Serumalbumin in wässeriger Lösung unter bedeutender Steigerung der Circularpolarisation in das Alkalialbuminat Lieberkühn's; bei längerer Einwirkung des Alkalis nimmt die Circularpolarisation wieder ab (Hoppe-Seyler[2]). Das Albumin enthält bei 140° getrocknet:

| | Dumas und Cahours | | | | Mulder | Rühling |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Schafserum | Ochsenserum | Kalbsserum | Menschenserum | | |
| C . . . | 53.54 | 53.40 | 53.49 | 53.32 | 53.4 | 53.1 |
| H . . . | 7.08 | 7.20 | 7.27 | 7.29 | 7.0 | 7.0 |
| N . . . | 15.82 | 15.70 | 15.72 | 15.70 | — | — |
| S . . . | — | — | — | — | 1.3 | 1.3 |

Demnach enthält Serumeiweiss merklich weniger Schwefel als Eiereiweiss.

Das Eier- und Serumalbumin findet wegen seiner Gerinnung beim Erhitzen namentlich in der Zuckerraffinerie zum Klären von Flüssigkeiten Anwendung. Es dient ferner in der Kattundruckerei zum Befestigen unlöslicher Farben auf der Faser. Fabrikmässig wird das Serumeiweiss bereitet, indem man geronnenes Blut in kleine Würfel zerschneidet, auf feine Siebe ausbreitet und das ablaufende Serum in flachen Schüsseln bei etwa 30 bis 40° verdunstet. Aehnlich lässt man das Weisse der Eier bei gelinder Wärme eintrocknen. Höhere Temperatur würde das Eiweiss durch Gerinnung unlöslich machen. Das Albumin wird mit Dextrin, Stärkemehl und ähnlichen Substanzen verfälscht.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **40**, 34.
[2]) Phys. patholog.-chem. Analyse S. 199.

Globuline[1]). Denis (de Commercy)[2]) machte zuerst die Beobachtung, dass neutrale Salzlösungen, so 10 proc. Kochsalzlösung, Salpeter, schwefelsaures Natrium, viele Eiweisskörper bei 30° auflösen, aus welchen Lösungen dann durch Zusatz von Wasser oder überschüssigem Salz die betreffenden Eiweisskörper wieder abgeschieden werden. Mit dem Namen Globuline bezeichnen nun Hoppe-Seyler[3]) und Weyl[4]) Eiweissstoffe, die unlöslich in Wasser, löslich in verdünnter Kochsalzlösung sind und daraus durch viel Wasser gefällt werden. Weyl (l. c.) theilt die thierischen Globuline nach ihrem Verhalten zu Kochsalzlösung in zwei Gruppen: das Vitellin, bisher der einzige Vertreter der ersten Abtheilung, ist in Kochsalzlösung jeder Concentration löslich. In die zweite Abtheilung gehören das Myosin, die fibrinogene Substanz und das Serumglobulin (Paraglobulin, fibrinoplastische Substanz) — diese drei Substanzen werden durch Eintragen von Kochsalzstücken aus ihren neutralen Lösungen gefällt.

a. Vitellin. Das Eigelb enthält neben Fetten, Lecithin, Nuclein und anderen wenig bekannten Stoffen einen Eiweisskörper, den Dumas und Cahours[5]) zuerst unter dem Namen Vitellin von dem Eiweiss unterschieden. Sie erhielten es durch Behandlung des gekochten und gröblich gepulverten Eigelbs mit Aether, wobei es als eine farblose coagulirte Eiweisssubstanz zurückbleibt.

Hoppe-Seyler und Weyl (l. c.) erschöpfen den gelben Dotter vom Hühnerei so lange mit Aether, als etwas aufgenommen wird, wodurch das Vitellin als weisse Masse zurückbleibt, die in möglichst wenig 10 proc. Kochsalzlösung gelöst und durch wiederholtes Fällen mit Wasser und Lösen in 10 proc. Kochsalzlösung gereinigt wird. In 10 proc. Kochsalzlösung gelöst, coagulirt das Vitellin beim Erwärmen auf 75°. Von verdünnter Salzsäure (1 pro Mille) wird es leicht gelöst, gleichzeitig aber in Syntonin (Acidalbumin) übergeführt. Aetzalkalien führen es, je concentrirter die Laugen sind, desto schneller in Alkalialbuminat über. Durch Alkohol wird es aus seinen Lösungen gefällt und in den unlöslichen Zustand übergeführt. Auch längere Berührung mit Wasser macht das Vitellin allmählich in Kochsalzlösungen unlöslich. Die bis jetzt ausgeführten Elementaranalysen des Vitellins zeigen wenig Uebereinstimmung.

Die Dotterplättchen der Fisch- und Schildkröteneier bestehen jedenfalls aus dem Vitellin nahe stehenden Substanzen. Sie wurden von Frémy und Valenciennes[6]) untersucht und als Ichthin, Ichthidin, Ichthulin und Emydin bezeichnet.

---

[1]) Als Globulin (Krystallin) bezeichnete Berzelius (Lehrb. d. Chem. 3. Aufl. **9**. 70, 528) den in den Blutkörperchen mit Hämatin verbundenen Eiweisskörper. Da man aber den letzteren nicht frei von Blutfarbstoff isoliren konnte, so sind seine Eigenschaften und Zusammensetzung noch nicht ermittelt. Berzelius betrachtete das Globulin identisch mit dem Eiweisskörper in der Krystalllinse des Auges (dem Krystallin), welcher allerdings nach Laptschinsky (Pflüger's Arch. **13**, 631) zu den Globulinen gehört.

[2]) Mémoire sur le sang. Paris 1850, p. 171: Nouvelles études chimiques etc. Paris 1856.

[3]) Phys. path.-chem. Analyse S. 100.

[4]) Zeitschr. phys. Chem. **1**, 72. 1877.

[5]) Ann. chim. phys. [3] **6**, 422.

[6]) Ann. chim. phys. [3] **50**, 120. 1857; Compt. rend. **38**. 480, 528, 571.

| | Bence Jones[1]) | Dumas und Cahours (l. c.) | Gobley[2]) | Baumhauer[3]) |
|---|---|---|---|---|
| C . . . . . . | 53.72—53.45 | 51.89—51.31 | 52.3 | 52.72 |
| H . . . . . . | 7.55— 7.66 | 7.07— 7.37 | 7.3 | 7.09 |
| N . . . . . . | 13.00—13.34 | 15.02—15.03 | 15.1 | 15.47 |
| S . . . . . . | — — | — — | 1.2 | 0.40 |

b. Myosin. So nennt Kühne[4]) den zuerst von ihm aus dem Muskelplasma dargestellten Eiweisskörper. Hoppe-Seyler[5]) bereitet ihn auf folgende Weise: Gut zerkleinerte frische Muskel werden mit Wasser ausgewaschen und die rückständige Masse in eine Mischung von 1 Vol. gesättigter Chlornatriumlösung und 2 Vol. Wasser eingetragen und durchgerührt. Man fügt dann von dieser Salzlösung noch hinreichenden Ueberschuss hinzu, so dass das Ganze eine nicht zu schleimige Consistenz erhält, lässt einige Stunden stehen, filtrirt durch Faltenfilter und trägt einige grosse Stücke klares Steinsalz ein, durch deren allmähliche Lösung das Myosin in leicht abzufiltrirenden Flocken gefällt wird. Um das Myosin von Kochsalz zu befreien, wird es nach dem Auspressen zwischen Fliesspapier in wenig Wasser gelöst und mit grossem Ueberschuss von Wasser gefällt. Das so dargestellte feuchte Myosin löst sich leicht in Salz-, besonders 10 proc. Chlornatriumlösungen. Nach dem Trocknen im Vacuum ist es dagegen fast ganz darin unlöslich. Sehr verdünnte Salzsäure verwandelt es bald in Syntonin — verdünnte Aetzalkalien in ein Alkalialbuminat. In 10 proc. Chlornatriumlösung gelöstes Myosin gerinnt beim Erwärmen auf 55 bis 60°; auch durch Alkohol wird es coagulirt. Das durch Wasser gefällte Myosin wird auch bei möglichstem Luftabschluss durch blosse Berührung mit Wasser allmählich in verdünnter Steinsalzlösung unlöslich und geht in Albuminate über (Weyl[6]). Elementaranalysen des Myosins sind nicht ausgeführt.

c. Paraglobulin (Kühne), Plasmin (Denis), fibrinoplastische Substanz (A. Schmidt), Serumcaseïn (Panum), Serumglobulin (Weyl). Die sehr umfangreiche und viel Controverse enthaltende Literatur dieses Körpers, der hauptsächlich von Medicinern untersucht wurde, kann hier nicht eingehend berücksichtigt werden. Scherer[7]) und Denis[8]) haben zuerst beobachtet, dass Blutserum, mit mehrfachem Volumen Wasser verdünnt und mit einer Säure vorsichtig neutralisirt, einen Eiweisskörper ausscheidet, der sich in neutralen Salzlösungen löst und beim Kochen der Lösung gerinnt. Der Körper ist seither von Panum[9]), A. Schmidt[10]),

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **40**, 67.
[2]) J. pharm. [3] **9**, 19.
[3]) Scheik. Onderzoek. **3**, 272.
[4]) Phys. Chem. Leipzig 1868, S. 274.
[5]) Phys. path.-chem. Analyse 1870, S. 202.
[6]) Zeitschr. phys. Chem. **1**, 77.
[7]) Ann. Chem. Pharm. **40**, 12.
[8]) Nouvelles études sur les subst. album. p. 5—8, 15—27.
[9]) Virchow's Arch. **3**, 251. 1851.
[10]) Reichert's und du Bois-Reymond's Arch. 1862, S. 431.

W. Kühne[1]), Brücke[2]), Hoppe-Seyler[3]), Eichwald[4]), Heynsius[5]) und Anderen untersucht worden. Ich gebe hier das Darstellungsverfahren nach Eichwald an, in dessen Monographie das Paraglobulin sammt geschichtlichen Angaben am ausführlichsten beschrieben ist. 300 bis 500 ccm Blutserum werden in mehreren cylindrischen Gefässen mit dem zehnfachen Volumen Wasser verdünnt und etwa eine halbe Stunde lang ein starker gut gewaschener Kohlensäurestrom durchgeleitet. Man lässt darauf die Gefässe 10 bis 12 Stunden stehen; das Paraglobulin fällt grösstentheils zu Boden und bildet einen feinflockigen, weissen, ziemlich compacten Bodensatz. Die darüber stehende Flüssigkeit wird nun mit einem Heber möglichst vollständig abgehoben, der Bodensatz mit wenig Wasser angerührt und auf ein Filter gebracht. Das Auswaschen des Niederschlages gelingt nicht vollkommen, da das fein vertheilte Paraglobulin durch die Filterporen durchgeht. Rührt man Paraglobulin in Wasser auf und häufelt in Zwischenräumen verdünnte Alkalilösung, z. B. von 0.1 Proc. hinzu, so quillt die Substanz allmählich auf, bräunt sich und geht in Lösung über. Aus der alkalischen Lösung wird es durch Eintragen grosser Quantitäten Neutralsalze oder Kohlensäure gefällt. Durch andere Säuren, verdünnte Mineral- oder Essigsäure, ist das Paraglobulin aus der Lösung in Alkali ebenso fällbar wie durch Kohlensäure. Die Fällung ist im geringsten Ueberschusse der Säure löslich. In verdünnten Lösungen neutraler Alkalisalze ist reines Paraglobulin stets leicht und vollkommen löslich; selbst bei sehr geringem, z. B. 0.1 proc. Salzgehalt, ist der Köper etwas löslich, doch bei weitem nicht so leicht, als in 1 bis 10 Proc. Kochsalz enthaltenden Lösungen. Wasser, welches weniger als 0.1 Proc. Kochsalz enthält, nimmt keine nachweisbaren Mengen auf; jedoch auch von 10 proc. Kochsalzlösungen werden höchstens 1.8 Proc. Paraglobulin gelöst (Weyl[6]). Die Lösung, erwärmt, gerinnt bei 75°. Nach Weyl (l. c.) ist das Paraglobulin Kühne's (fibrinoplastische Substanz A. Schmidt's) identisch mit dem Globulin und Serumcasein Kühne's, sowie dem Globulin von Heynsius, und nach der Ansicht dieses Autors ist im Blutserum nur eine einzige Globulinsubstanz enthalten. Diese wird aus dem mit 15 Vol. Wasser verdünnten Blutserum durch Kohlensäure und einige Tropfen verdünnter Essigsäure gefällt. Sie wird von ihm mit dem neuen Namen Serumglobulin bezeichnet. Heynsius[7]) betrachtet das Paraglobulin als identisch mit Alkalialbuminat, das durch Einwirkung eines schwachen Alkalis dargestellt wird. Elementaranalysen des Paraglobulins sind nicht ausgeführt worden. Nach Senator[8]), Petri[9]) und Führy-Snethlage[10]) findet sich im Menschenharne bei Albuminurie, jedoch nicht constant, Paraglobulin (d. h. eine daraus durch

[1]) Lehrb. der phys. Chem. 1868, S. 168.
[2]) Wien. Akad. Ber. **55**, 1867 und Virchow's Archiv **12**, 193.
[3]) Phys. path.-chem. Analyse S. 203.
[4]) Beiträge zur Chemie der gewebbildenden Substanzen. Berlin 1873.
[5]) Pflüger's Archiv **2**, 21. 1869.
[6]) Zeitschr. phys. Chem. **1**, 78.
[7]) Pflüger's Archiv **9**, 514 bis 552; Maly's Jahresber. 1874, S. 13.
[8]) Maly's Jahresber. 1874, S. 202.
[9]) Ebendaselbst 1876, S. 148.
[10]) Ebendaselbst 1876, S. 147.

Kohlensäure fällbare Eiweisssubstanz) und Peptone. Man kann aber nicht aus der Paraglobulinmenge im eiweisshaltigen Harne mit annähernder Sicherheit auf die Art der Nierenaffection schliessen (Führy-Snethlage).

d. Die fibrinogene Substanz. Nach A. Schmidt enthält das Blutserum ausser dem Paraglobulin noch eine zweite Globulinsubstanz: das Fibrinogen, welches nach Ausfällung des Paraglobulins aus dem zehnfach mit Wasser verdünnten Serum durch noch weitere Verdünnung der vom Paraglobulin filtrirten Serumflüssigkeit und anhaltenden Kohlensäurestrom oder durch wenig verdünnte Essigsäure als ein klebriger, fest an den Wänden und am Boden des Gefässes haftender Niederschlag abgeschieden wird. Statt vom Paraglobulin befreiten Serums kann zur Darstellung des Fibrinogens Pericardial- oder Hydroceleflüssigkeit, welche sehr wenig Paraglobulin und vorwiegend fibrinogene Substanz enthalten, benutzt werden. Das Fibrinogen ist in Chlornatriumlösungen löslich und wird ähnlich wie das Paraglobulin durch Eintragen von viel Kochsalz aus der Lösung gefällt, doch soll das Fibrinogen durch Wasser oder verdünnte Säuren schwieriger auszufällen sein als das Paraglobulin; auch in verdünnten Alkalien ist das Fibrinogen etwa zehnmal weniger löslich als das Paraglobulin. Weitere Angaben über diese unvollkommen studirte Substanz s. A. Schmidt[1]), Kühne[2]) und Hammarsten[3]).

2. Fibrin. Das Fibrin scheidet sich aus dem Blute oder der Lymphe, sobald diese Säfte die lebendige Gefässwand verlassen haben, aus. Zu seiner Darstellung wird gewöhnlich frisch aus der Ader geflossenes Blut mit einem hölzernen Quirl oder Glasstabe heftig umgerührt, wobei sich das Fibrin in langen Fasern, die viele Blutkörperchen einschliessen, an den Quirl ansetzt. Durch Kneten unter fliessendem Wasser des in einem Leinwandsäckchen eingebundenen Gerinnsels lassen sich die Blutkörperchen, wenn auch langsam, ziemlich vollkommen entfernen. Rein wird das Fibrin aus dem blutkörperchenfreien Plasma (siehe Art. Blut) gewonnen. Nach A. Schmidt[4]) entsteht das Fibrin durch Verbindung des Paraglobulins mit Fibrinogen erst ausserhalb der Blutgefässe, welche Verbindung durch einen im Blute befindlichen dritten Körper bewirkt wird. Nach Hammarsten[5]) ist das Fibrinogen die einzige Muttersubstanz des Fibrins, welches durch Fermentwirkung auch in paraglobulinfreien Fibrinogenlösungen gebildet wird. Mantegazza[6]) findet dagegen die Ursache der Fibrinbildung in den weissen Blutkörperchen, die, wenn sie ihren physiologischen Bedingungen entzogen werden, eine Substanz ausscheiden, die selbst Fibrin oder doch die Ursache der Fibrinbildung ist. Zur Fibrinbildung sind die rothen Blutkörperchen in keiner Weise erforderlich — es gerinnen die Lymphe und entzündliche seröse Exsudate, welche kein einziges rothes Blutkörperchen enthalten. Hingegen sind in jeder gerinnenden Flüssigkeit stets weisse Blutkörperchen vorhanden. Ueber die Fibringerinnung vergleiche ferner: A. Gautier, F. Glénard

[1]) Pflüger's Archiv **6**, 413.
[2]) Phys. Chem. 1868, S. 168.
[3]) Maly's Jahresber. 1876, S. 15.
[4]) Pflüger's Archiv **6**, 413; **13**, 146.
[5]) Ebendaselbst **14**, 211.
[6]) Maly's Jahresber. 1871, S. 112.

und Mathieu und Urbain[1]). Die Bildung des Fibrins, d. h. die Gerinnung der betreffenden Flüssigkeiten tritt schneller bei höherer als bei niederer Temperatur ein. Bei Temperaturen unter 0° gerinnt das Blut nicht. Freie Kohlensäure verlangsamt die Gerinnung oder verhindert sie ganz. Schütteln oder Durchleiten von Luft beschleunigt sie. Wird Blut in Salzlösungen und bei niederen Temperaturen aufgefangen, so wird die Gerinnung verzögert oder gänzlich aufgehoben. Gautier[2]) sah, dass frisches Blut, mit einer solchen Menge Kochsalzlösung versetzt, dass die Flüssigkeit 4 Proc. Kochsalz enthielt, nicht mehr coagulirte. Er konnte das so gesalzene Blut bei 8° von den rothen Blutkörperchen abfiltriren. Das kaum gefärbte Filtrat coagulirte nach Zusatz des doppelten Volumens Wasser zu einer festen und fast farblosen Masse. Das filtrirte Plasma konnte in luftverdünntem Raume eingetrocknet und der Rückstand bis auf 110° erhitzt werden, ohne seine Löslichkeit einzubüssen. Von Neuem in Wasser gelöst, gerann es vollkommen. Das Plasma, welches 4 Proc. Kochsalz enthält, gerinnt nicht, wenn es mit Kohlensäure gesättigt ist. Frisch dargestelltes Fibrin ist eine weisse, zähe, elastische, aus verwirrten Fäden bestehende Masse. Fibrinflocken, in neutralen Flüssigkeiten auf 72° erwärmt, werden weiss und undurchsichtig wie geronnenes Eiweiss und schrumpfen sehr zusammen. Frisch dargestellt wird es durch Sauerstoff oxydirt, bringt man es in eine mit Sauerstoffgas gefüllte und mit Quecksilber abgesperrte Glocke, so vermindert sich allmählich das Volumen des Gases, der Sauerstoff verschwindet theilweise und dem Gase ist Kohlensäure beigemengt. Das gekochte Fibrin kann dagegen mit Sauerstoffgas, ohne dass sich Kohlensäure bildet, zusammengebracht werden (Scherer[3]). Bringt man frisches Fibrin mit Wasserstoffsuperoxyd zusammen, so erfolgt eine lebhafte Sauerstoffentwickelung. Das gekochte Fibrin zeigt diese Eigenschaften nicht. Von verdünnten Alkalien wird das Fibrin besonders beim gelinden Erwärmen allmählich gelöst und in ein Alkalialbuminat übergeführt. Durch Säuren wird es daraus gefällt. Der Niederschlag löst sich in überschüssiger Säure wieder auf. Das Fibrin wurde von vielen Chemikern analysirt. So von Gay-Lussac und Thénard, Mulder, Scherer, Rühling, Melsens[4]), Strecker und Unger[5]) und Anderen mehr. Die älteren Analysen zeigen einen etwas höheren Kohlenstoff- und niedrigeren Stickstoffgehalt als die neueren, wo man auf die vollkommene Entfettung der analysirten Präparate Rücksicht genommen wurde. Dumas und Cahours[6]) erhielten folgende Zahlen:

Fibrin aus arteriellem und venösem Blute bei 140° getrocknet.

| | Schaf | Kalb | Rind | Pferd | Hund | Mensch |
|---|---|---|---|---|---|---|
| C . . . | 52.8 | 52.5 | 52.7 | 52.67 | 52.74 | 52.78 |
| H . . . | 7.0 | 7.0 | 7.0 | 7.00 | 6.92 | 6.96 |
| N . . . | 16.5 | 16.5 | 16.6 | 16.63 | 16.72 | 16.78 |

[1]) Bull. soc. chim. 1875 und 1876.
[2]) Bull. soc. chim. **23**, 530.
[3]) Ann. Chem. Pharm. **40**, 13.
[4]) Compt. rend. **20**, 1437.
[5]) Ann. Chem. Pharm. **60**, 114.
[6]) Ann. chim. phys. **6** [3], p. 404.

Den Stickstoffgehalt des Fibrins fand Melsens im Mittel mehrerer Analysen = 17.7 Proc.; Strecker und Unger 17.2 bis 17.3 Proc. Maly[1]) fand bei Fibrin aus Rinderblut = C 52.51, H 6.98, N 17.34 Proc. Der Schwefelgehalt des Fibrins wurde von Verdeil[2]) = 1.6 Proc., von Rühling[3]) = 1.5 Proc. gefunden. Im Vergleich zu Serum- und Eieralbumin zeichnet sich Fibrin durch einen höheren Stickstoff- und ein wenig niedrigeren Kohlen- und Wasserstoffgehalt aus.

3. Caseïn. In der Milch der Säugethiere ist das Caseïn der hauptsächlichste und ihr eigenthümliche Eiweisskörper, wenigstens sind die Angaben von Simon, Moleschott[4]) und Stas[5]) über das Vorkommen des Caseïns im Blute, in der Krystalllinse, in Cystenflüssigkeiten bei der leichten Verwechselung mit anderen Eiweissstoffen fraglich (vgl. unten Blutcaseïn). Ausser Caseïn haben zuerst Millon und Commaille[6]) einen Eiweisskörper, das Lactoproteïn, mittelst salpetersauren Quecksilbers aus dem Milchserum abgeschieden. Nach Hammarsten[7]) ist jedoch das Lactoproteïn ein Gemenge von Caseïn, Serumalbumin (resp. Acidalbumin) und wahrscheinlich auch Peptonen. Jedenfalls sind in der Milch ausser Caseïn noch ein oder mehrere wenig charakterisirte Eiweissstoffe enthalten. Wahrscheinlich ist auch durch die verschiedene Menge dieser Eiweisssubstanzen relativ zu Caseïn das verschiedene Verhalten der einzelnen Milchsorten gegen die Fällungsmittel des Eiweisses bedingt. Die Coagulation des Eiweisses in der Frauenmilch, z. B. durch Ansäuern der kochenden Milch, Einleiten von Kohlensäure, Eintragen von Kochsalz oder schwefelsaurem Natrium, ist stets eine unvollständige, während aus der Kuhmilch durch eine der obigen Methoden die Eiweissstoffe vollkommen ausgefällt werden (Nencki[8]). Aus der Frauenmilch können die Eiweissstoffe nur durch Tannin vollständig ausgefällt werden (Liebermann[9]). Ueber das Caseïn in der Frauen-, Kuh- und Stutenmilch vgl. Biedert, Biel, Selmi[10]) und Langgard[11]).

Aus der Kuhmilch kann das Caseïn durch Verdünnen mit etwa dem dreifachen Volumen Wasser und Zusatz von verdünnter Salzsäure tropfenweise bis zu flockiger Abscheidung, Abpressen oder Filtriren des Coagulums erhalten werden. Um die Aschenbestandtheile und das Fett zu entfernen, wird das Coagulum auf dem Filter mit kaltem Wasser ausgewaschen, sodann mit Alkohol und Aether extrahirt. Auch durch Eintragen neutraler Salze in die Milch (schwefelsaurem Magnesium), durch Alkohol, sowie durch die Schleimhaut des vierten Kälbermagens, das Lab, oder die sogenannte spontane Gerinnung der Milch durch Milchsäurebildung wird Caseïn aus

[1]) Pflüger's Archiv **9**, 588.
[2]) Ann. Chem. Pharm. **58**, 317.
[3]) Ebendaselbst **58**, 311.
[4]) J. pr. Chem. **55**, 237.
[5]) Compt. rend. **30**, 630.
[6]) Ebendaselbst **58**, 86; **60**, 118, 859; **61**, 221.
[7]) Maly's Jahresber. 1876, S. 14.
[8]) Deutsch. chem. Ges. **8**, 1046. — Dieser Band S. 121.
[9]) Wien. Akad. Ber. **72**, 1875.
[10]) Maly's Jahresber. 1874.
[11]) Ebendaselbst 1875.

der Milch gefällt. A. Schmidt[1]) giebt an, dass durch 30- bis 36stündige Dialyse der Milch alle löslichen Salze entzogen werden können. Die dialysirte und filtrirte Milch giebt eine Caseïnlösung, welche keine Spur von löslichen Salzen, sondern nur Kalk und Magnesiaphosphat enthält. Ausser dieser von löslichen Salzen befreiten Lösung wird das Caseïn durch Ansäuern gefällt. Da die Milch beim Eindampfen oder Kochen nicht gerinnt, wurde ziemlich allgemein angenommen, dass das Caseïn in der Milch in Form eines Natron- oder Kalialbuminates enthalten sei. Die obige Beobachtung Schmidt's, falls richtig, würde dieser Annahme widersprechen. Nach Hammarsten[2]) übrigens coagulirt Milch oder auch reine Caseïnlösung ohne jeden Säurezusatz beim Erhitzen in zugeschmolzenem Rohre auf 130 bis 150⁰. Das Caseïn kann also ebenso wie das Serum- und Eiereiweiss durch einfaches Erhitzen coagulirt werden, nur ist für das Caseïn ein bedeutend höherer Wärmegrad nöthig. Nach Hammarsten wäre der chemische Vorgang bei der Gerinnung des Caseïns durch Lab und durch Hitze derselbe. In beiden Fällen werde das Caseïn in zwei Eiweisskörper gespalten. Von diesen beiden ist der eine (der Käse) schwer löslich und der Menge nach bedeutend überwiegend, der andere dagegen (das Molkeneiweiss) leicht löslich. Diese Theorie scheint mir nicht richtig zu sein, da z. B. in der Kuhmilch nach Ausfällung des Caseïns in dem Filtrate (den Molken) keine Eiweisssubstanz mehr nachzuweisen ist.

Das durch Fällung erhaltene Caseïn ist eine weisse flockige Masse, nach dem Trocknen gelblich, brüchig und wenig durchscheinend. Unlöslich in Wasser, Alkohol und Aether, löst sich aber in Wasser und auch in Alkohol bei Zusatz von wenig Alkali oder sehr wenig Säure; Aether fällt es aus der alkoholischen Lösung. Aus der Lösung in verdünnten Säuren wird Caseïn durch Platincyankalium gefällt (Schwarzenbach[3]). Der entstandene Niederschlag verliert nach und nach beim Auswaschen Platinwasserstoff (Fuchs[4]). Caseïn in sehr verdünnter Salzsäure gelöst zeigt die specif. Drehung für gelbes Licht = — 87⁰. In schwach alkalischer Lösung = — 76⁰. In stark alkalischer Lösung = — 91⁰ (Hoppe-Seyler[5]). Die Lösung in concentrirtem Alkali wird schon in der Kälte, rascher beim Erwärmen unter Bildung von Schwefelalkalimetall angegriffen. Die älteren Elementaranalysen des Caseïns von Mulder[6]) und Scherer[7]) zeigen ein wenig höheren Kohlenstoffgehalt 54.8 bis 54.2 Proc. Die späteren von Rochleder[8]), Rühling[9]) und Völcker[10]) stimmen gut mit den von Dumas und Cahours[11]) erhaltenen überein. Die letzten erhielten für Caseïn der Milch verschiedener Thiere:

---

[1]) Maly's Jahresber. 1874, S. 155.
[2]) Ebendaselbst 1874, S. 154.
[3]) Ann. Chem. Pharm. **133**, 185; **144**, 62.
[4]) Ebendaselbst **151**, 372.
[5]) Phys. path.-chem. Analyse S. 207.
[6]) J. pr. Chem. **17**, 333.
[7]) Ann. Chem. Pharm. **40**, 41.
[8]) Ebendaselbst **45**, 256.
[9]) Ebendaselbst **58**, 308.
[10]) J. pr. Chem. **71**, 118.
[11]) Ann. chim. phys. [3] **6**, 418.

| | Kuhmilch | Ziegenmilch | Eselinmilch | Schafmilch | Frauenmilch |
|---|---|---|---|---|---|
| C . . . . | 53.50 | 53.60 | 53.69 | 53.52 | 53.47 |
| H . . . . | 7.05 | 7.11 | 7.14 | 7.07 | 7.13 |
| N . . . . | 15.77 | 15.78 | 16.00 | 15.80 | 15.83 |

Rühling fand 53.4 bis 53.7 C, 7.2 bis 7.1 H und 0.9 bis 1.0 S.

Als Blutcaseïn bezeichnen Dumas und Cahours (l. c. S. 415) eine von ihnen im pathologischen Blute gefundene und der Zusammensetzung und den Reactionen nach dem Milchcaseïn ähnliche Substanz. Man erhält sie durch Ausziehen des Blutkuchens mit kochendem verdünnten Weingeist. Beim Erkalten der heiss filtrirten alkoholischen Lösung scheidet sich das Blutcaseïn aus. Gewisse Blutarten geben davon viel, andere nur Spuren. Dumas und Cahours vermuthen, dass man das Blutcaseïn dann finden kann, wenn die Zahl der weissen Blutkörperchen im Blute wesentlich vermehrt ist (bei Leukämie). Die Substanz hatte die Zusammensetzung des Milchcaseïns. Sie enthielt: 53.47 C, 7.09 H und 15.87 Proc. N.

4. Die Alkalialbuminate, das Syntonin und die Acidalbumine. Fast alle Eiweisskörper gehen, in verdünnten Aetzalkalien gelöst, zum Theil unter Bildung von Schwefelalkalimetall in Modificationen über, die man als Alkalialbuminate oder Proteïne bezeichnet. Mulder[1]), der zuerst das Alkalialbuminat darstellte und ihm den Namen Proteïn gab, hielt es Anfangs für schwefelfrei und betrachtete es als denjenigen Stoff, der die gemeinsame Grundlage aller Eiweisssubstanzen bildet. Spätere Untersuchungen haben gezeigt, dass das Proteïn schwefelhaltig ist, und aller Wahrscheinlichkeit nach sind die Proteïne, aus verschiedenen Eiweissstoffen bereitet, nicht identisch. So wird das Rotationsvermögen für gelbes Licht bei der Umwandlung eines Eiweisskörpers durch Kalilauge in das Proteïn im Allgemeinen gesteigert, jedoch ist es für Proteïne verschiedenen Ursprungs verschieden. Das Serumalbumin zeigt z. B. mit starker Kalilauge behandelt eine Steigerung der specif. Drehung auf — 86°, Eieralbumin auf — 47°, coagulirtes Eieralbumin auf — 47°.

Lieberkühn[2]), der die Verbindungen des Proteïns mit Metalloxydhydraten darstellte und analysirte, bereitet es auf folgende Weise: Eiereiweiss wird mit etwa dem gleichen Theile Wasser verdünnt, filtrirt und wieder bis ungefähr zur ursprünglichen Consistenz bei 40° eingedampft; hierauf mit concentrirter Kalilauge versetzt. Es erstarrt dadurch die ganze Flüssigkeit zu einer durchscheinenden, gelblichen, sehr elastischen Masse, dem Albuminkali, das durch Waschen mit kaltem Wasser, zwar mit vielem Verlust, von überschüssigem Kali befreit, dann in kochendem Alkohol gelöst und durch Aether aus dieser Lösung abgeschieden wird. Der Zutritt der Luft muss beim Auswaschen des Albuminkalis möglichst vermieden werden, weil es durch Einwirkung derselben in Alkohol unlöslich wird. Aus der alkoholischen Lösung wird durch Neutralisation des Alkalis mit Essigsäure das Albumin gefällt, das mit Wasser ausgewaschen keinen wahrnehmbaren Rückstand bei der

[1]) Natur or scheik archief. 1836, p. 87; J. pr. Chem. **1**, 296.

[2]) Pogg. Ann. **86**, 117, 298. 1852.

Verbrennung hinterlässt. Die Elementaranalyse des so bereiteten Präparates ergab: 53.51 bis 53.15 Proc. C, 7.03 bis 7.13 Proc. H, 15.61 bis 15.88 Proc. N und 1.83 Proc. S, woraus Lieberkühn für dieses Albumin die Formel: $C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22}$ berechnet, die er durch Analysen mehrerer Metalloxydhydratverbindungen bestätigt findet.

Das Barytalbuminat = $(C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22})_2 + BaO_2H_2$ wurde erhalten durch Fällung der alkoholischen Lösung des Albuminkalis mit Chlorbaryum — weisses in Wasser, Alkohol und Aether unlösliches Pulver; gef. C 50.59 Proc., H 6.83 Proc., BaO 4.44 Proc.; ber. C 50.89 Proc., H 6.65 Proc., BaO 4.50 Proc.

Das Kalialbuminat (Albuminkali) = $C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22} + (KOH)_2$, welches zur Darstellung anderer Metallverbindungen des Albumins diente, wird aus der alkoholischen Lösung durch Aether gefällt. Nach dem Trocknen ist dies Salz in kochendem Alkohol und Wasser nicht mehr löslich — es wird hierdurch als weisses Pulver erhalten, welches an Wasser kein Kali abgiebt; gef. C 50.21 Proc., H 6.65 Proc., $K_2O$ 5.44 Proc.; ber. C 50.11 Proc., H 6.61 Proc., $K_2O$ 5.45 Proc.

Das Kupferalbuminat = $C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22} + CuO_2H_2$, erhalten durch Fällung der alkoholischen Lösung des Albuminkalis mit Kupfervitriollösung, ist in Wasser und Alkohol unlöslich. Rein ausgewaschen und getrocknet erscheint es als eine grüne spröde Masse, die sich schwer pulvern lässt; durch Erwärmen mit Säuren wird das Salz entfärbt, aber nicht aufgelöst; gef. C 50.86 Proc., H 6.83 Proc., CuO 4.60 Proc.; ber. C. 50.54 Proc., H 6.67 Proc., CuO 4.65 Proc.

Das Silberalbuminat = $C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22} + AgOH$, durch Fällung des Albuminkalis mit $AgNO_3$-lösung erhalten, — flockiger in Wasser unlöslicher Niederschlag, der sich am Licht allmählich färbt; gef. C 49.41 Proc., H 6.66 Proc., $Ag_2O$ 6.55 Proc.; ber. C 49.74 Proc., H 6.56 Proc., $Ag_2O$ 6.67 Proc.

Das Zinkalbuminat = $C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22} + ZnO_2H_2$, ähnlich wie das vorige durch Fällung mit Zinkvitriol erhalten, ist in Wasser und Alkohol unlöslich, getrocknet von gelblicher Farbe und ziemlich leicht zerreiblich; gef. C 50.37 Proc., H 6.62 Proc., ZnO 4.66 Proc.; ber. C 50.48 Proc., H 6.66 Proc. und Zn 4.74 Proc.

Doppelverbindungen des Albumins, wie z. B. das Kalikupferalbuminat, das Baryt und das Kalkkupferalbuminat u. a. m., wurden von Lassaigne[1] dargestellt und analysirt. Auch die Nitro- und Sulphonderivate von Löw (siehe unten) sprechen sehr dafür, dass dem Lieberkühn'schen Albumin die Formel: $C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22}$ wirklich zukommt.

Die Proteïne, wie sie durch Fällung der alkalischen Lösung mit Essigsäure erhalten werden, sind nach dem Trocknen nicht mehr in Wasser löslich und quellen nur darin auf. Auch in Essigsäure oder Kalilauge lösen sie sich dann nur langsam auf. Frisch dagegen gefällt sind sie in sehr verdünnten Säuren oder Alkalien, auch kohlensauren Alkalien, leicht löslich. Die verdünnten alkalischen Lösungen verhalten sich wie Caseïn.

Aehnlich wie durch Alkalien werden die Eiweissstoffe auch durch Säuren in Modificationen übergeführt, welche mit den durch Alkali aus den Eiweissstoffen

[1]) Ann. chim. phys. **64**, 90.

entstehenden Proteinen grosse Aehnlichkeit haben. Sie werden mit dem Namen Acidalbumine oder Syntonine bezeichnet, und es scheint, dass das Albumin Lieberkühn's ähnlich wie mit Metalloxydhydraten auch mit Säuren Verbindungen eingeht. G. Johnson[1]) machte die Beobachtung, dass Hühnereiweiss, auf einen Pergamentdialysator gebracht, der auf einer verdünnten Salpetersäurelösung (1 g in 100 ccm Wasser) schwimmt, sich in eine feste durchsichtige Sülze verwandelt, die in siedendem Wasser löslich ist und in der Kälte wieder erstarrt. Mit Alkali neutralisirt, gerinnt die salpetersaure Lösung beim Erhitzen — Ueberschuss von Alkali verhindert das Gerinnen. Diese Nitratverbindung ist in trockenem Zustande hart, spröde, durchscheinend, gummiartig, hygroskopisch und nach der Formel: $C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22} + 2(NO_3H)$ zusammengesetzt. In ganz ähnlicher Weise wurden die Verbindungen des Albumins mit anderen Säuren dargestellt: Albumin-Salzsäure $= C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22} + 2HCl$, Albumin-Schwefelsäure $= C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22} + SO_4H_2$, Albumin-Phosphorsäure $= C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22} + 3H_3PO_4$, Albumin-Oxalsäure $= C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22} + C_2H_2O_4$. Sogar mit Weinsäure und Essigsäure giebt Johnson an, Verbindungen des Albumins in bestimmten molekularen Verhältnissen erhalten zu haben.

Das Syntonin (Lehmann) Muskelfibrin (Liebig) ist ein Umwandlungsproduct des Myosins. Zu seiner Darstellung wird feingehacktes und mit Wasser ausgewaschenes Muskelfleisch mit verdünnter Salzsäure ($^1/_{1000}$ Säuregehalt) übergossen und die dickliche von Fett trübe Flüssigkeit filtrirt. Das Filtrat giebt, mit Alkali neutralisirt, einen gallertartigen weissen Brei, der sich in überschüssigem Alkali leicht löst. Man wäscht den Niederschlag mit Wasser aus und entfernt das Fett durch Aether. Die Elementaranalysen des Syntonins aus Muskelfleisch ergaben:

| | Strecker[2]) | | | Baumhauer[3]) |
|---|---|---|---|---|
| | 1<br>Huhn | 2<br>Rind | 3<br>Schaf | 4<br>Fisch |
| C . . . . | 54.5 | 53.7 | — | 54.7 |
| H . . . . | 7.3 | 7.3 | — | 7.2 |
| N . . . . | 15.8 | — | 16.3 | 15.4 |
| S . . . . | 1.2 | — | 1.1 | 1.5 |

1, 2 und 3 war die analysirte Substanz in schwacher Salzsäure gelöst, durch Ammoniak gefällt und bei 120° getrocknet. 4 in Essigsäure gelöst und mit Ammoniak gefällt.

Aus Blutfibrin oder Serumalbumin erhält man Syntonin durch Auflösen in rauchender Salzsäure, Filtriren der Lösung und Fällen des Filtrates mit dem doppelten Volumen Wasser. Der Niederschlag abfiltrirt und in Wasser eingetragen, löst sich klar darin auf und giebt mit Sodalösung neutralisirt gallertflockigen

[1]) J. Chem. Soc. [2] **12**, 734; Maly's Jahresber. 1874, S. 9.
[2]) Ann. Chem. Pharm. **73**, 126.
[3]) Chem. Unters. v. Mulder, ins Deutsche übers. v. Völcker, Nr. 3, S. 301.

Niederschlag von reinem Syntonin. Eieralbumin löst sich schwer in concentrirter Salzsäure und giebt bald nach seiner Auflösung beim Wasserzusatz einen brüchig faserigen, in Wasser kaum löslichen Niederschlag, während nach ein- bis zweitägigem Stehen der salzsauren Lösung durch Wasser Syntonin gefällt wird (Hoppe-Seyler[1]). Durch Einwirkung auch der verdünntesten Salzsäure gehen die Globuline in Syntonin über. Auch durch die Einwirkung des Magensaftes werden die Eiweissstoffe zuerst in Syntonine übergeführt.

Frisch dargestellt ist das Syntonin weiss, durchsichtig, gelatinös, löslich in $^1/_{1000}$ Salzsäure oder in sehr verdünnten Alkalien. Aus den Lösungen wird es durch Sättigen mit Neutralsalzen gefällt, nicht durch die Hitze. Wasserstoffsuperoxyd wird von Syntonin nicht zersetzt. Syntonin ist löslich in Kalkwasser, die Lösung schäumt beim Kochen und der Schaum wird unlöslich. In Wasser suspendirtes und einige Minuten auf 85° erwärmtes Syntonin wird modificirt und zum Theil in verdünnter Salzsäure unlöslich. Das Drehungsvermögen für Syntonine verschiedenen Ursprungs schwankt zwischen — 70 bis — 74°.

5. Das coagulirte Eiweiss. Die bisher aufgezählten Eiweisskörper werden durch Erhitzen ihrer neutralen Lösungen zum Sieden, sowie durch längere Berührung mit Alkohol in die in Wasser unlösliche Form — das geronnene Eiweiss — verwandelt. Eiereiweiss wird auch durch starke Salzsäure oder Aether in die coagulirte Modification übergeführt. Nach Schützenberger[2]) gerinnt eine Eiweisslösung beim Erhitzen nicht vollständig. Die von dem Gerinnsel abfiltrirte Flüssigkeit enthält stets einen gelben schwefelhaltigen Körper von bitterem Geschmack, etwa 0.5 bis 0.7 Proc. von dem Gewichte des coagulirten Eiweisses betragend. Auch durch Elektricität werden Eiweisslösungen zum Gerinnen gebracht. Diese Beobachtung von Brugnatelli, Brandes, Prévost und Dumas wird von Lassaigne[3]) dahin erweitert, dass salzfreie Albuminlösungen sehr schlechte Stromleiter sind, dagegen viel bessere bei Anwesenheit von Salzen. Lassaigne schliesst daraus, dass reines Eiweiss nicht durch den Volta'schen Strom gefällt wird, sondern durch die aus dem Salze frei gemachte Säure. Nach Matteucci ist nicht allein die Säure, sondern auch die erhöhte Temperatur die Ursache der Gerinnung (vergl. dagegen Morin[4]).

Ob das coagulirte Eiweiss aus verschiedenen Eiweisskörpern wie Fibrin, Serumalbumin, Caseïn u. s. w. identisch ist, ist nicht erwiesen und auch nicht wahrscheinlich. Irgend ein wesentlicher Unterschied im chemischen und physikalischen Verhalten ist jedoch bis jetzt nicht bekannt. Das geronnene Eiweiss aus den verschiedenen Eiweisssubstanzen ist in Wasser und Alkohol unlöslich, schwer löslich in verdünnten Aetzalkalien. In verdünnter Salzsäure ist es ebenfalls unlöslich. Durch Lösungen von Pepsin in sehr verdünnter Salzsäure wird es bei 37 bis 40° in Syntonin und Peptone umgewandelt. Von concentrirter Salzsäure wird es gelöst unter Bildung von Syntonin und peptonähnlichen linksdrehenden Körpern, die beim

[1]) Phys. path.-chem. Analyse. 1870, S. 210.

[2]) Bull. soc. chim. **23**, 172.

[3]) Histoire générale des matières album. Thèse. Paris 1872, p. 20.

[4]) Thèse. Paris. 1861.

Erhitzen ihrer neutralen Lösungen nicht gefällt werden. Von Aetzalkalien wird es in Alkalialbuminat (Proteïn) umgewandelt. Von Essigsäure wird es zuerst aufgequellt, sodann allmählich gelöst. Die Lösungen in Essigsäure werden schon kalt durch concentrirte Salzlösungen gefällt. Die Lösungen in Ammoniak geben beim Kochen unter Entweichen von Ammoniak Niederschläge (Hoppe-Seyler). Die neuerdings von Aronstein und A. Schmidt[1]) gemachte Angabe, dass durch Dialyse absolut aschefreies Eiweiss erhalten wird, welches dann auch beim Erhitzen nicht gerinnt, konnte A. Heynsius[2]) nicht bestätigen.

6. Die amyloïde Substanz. Mit diesem Namen bezeichnete Virchow die nur in pathologischen Fällen in Form feiner concentrisch schaliger Körnchen auf die serösen Häute abgelagerte Substanz. Häufig findet sie sich in den inneren Organen (Milz, Leber, Nieren u. s. w.) als glasglänzende Infiltration. Dieser Körper, nur mangelhaft bisher aus den ihn umgebenden Gewebstheilen isolirt, ist von C. Schmidt[3]), Friedreich und Kekulé[4]), Kühne und Rudneff[5]) untersucht und analysirt worden. Sie fanden darin 53.6 C, 7.0 H, 15.0 bis 15.5 N und 1.3 S. Nach Friedreich's Untersuchungen entsteht diese Substanz in den Geweben aus Fibrinablagerungen. Modrzejewski[6]) erhielt beim Kochen der amyloiden Substanz mit verdünnter Schwefelsäure Leucin und Tyrosin in Mengen, wie sie gewöhnlich beim Zersetzen der Albuminate erhalten werden. Jod färbt die amyloide Substanz röthlich, durch Jod und Schwefelsäure wird die Färbung stärker roth, violett, manchmal rein blau erhalten. Diese Reaction ist für die amyloid entarteten Gewebe charakteristisch. Ein anderes Reagens ist das Anilinviolett, wodurch das Amyloid nicht violett, sondern roth gefärbt wird [Jürgens[7]), Cornil[8])]. Concentrirte Salzsäure verwandelt die amyloide Substanz in Syntonin; Alkalien in Alkalialbuminat (Proteïn).

## II. Die Proteïnsubstanzen des Bindegewebes.

Den eigentlichen Eiweissstoffen, wie sie in den thierischen Säften und dem Zellinhalt (Blut, Lymphe, Drüsenzellen, Muskeln) vorkommen, können eiweissartige Körper entgegengestellt werden, aus welchen die im Thierreiche so sehr verbreiteten Bindesubstanzen bestehen. Es soll diese Eintheilung nicht so verstanden werden, als ob die Trennung in Wirklichkeit eine scharf begrenzte wäre; denn es enthalten z. B. die Bindegewebszellen wirkliches, durch Hitze gerinnendes Eiweiss. Bei Weitem aber die grösste Menge der Bindesubstanzen besteht aus leimgebender Substanz, so dass der Leim für das thierische Bindegewebe ebenso charakteristisch ist, wie das Eiweiss für die thierischen Flüssigkeiten und Zellen. Die Bindesubstanzen bilden die Grundlage, Träger

[1]) Pflüger's Archiv **8**, 75. 1873.
[2]) Ebendaselbst **9**, 514.
[3]) Ann. Chem. Pharm. **110**, 250.
[4]) Virchow's Archiv **16**, 50.
[5]) Ebendaselbst **33**, 66.
[6]) Maly's Jahresber. 1873, S. 31. — Dieser Band S. 62.
[7]) Virchow's Archiv **65**, 181.
[8]) Compt. rend. **80**, 1288.

oder Umhüllung für Epithelialgebilde, Blut, Lymphe, Muskel und Nerven. Bei den Wirbelthieren umfasst die Gruppe der Bindesubstanzen: das Bindegewebe, das Knorpelgewebe, das Knochengewebe, das Gewebe der Hornhaut und des Zahnbeins. Man kann das Bindegewebe der entwickelten Organismen in zwei Abtheilungen theilen. Die erste umfasst jene Formen, welche von aus Zellen ausgewachsenen Netzen und Balken gebildet werden, auch Schleim- oder Gallertgewebe genannt, welches beim Kochen keinen Leim giebt, dagegen durch den beträchtlichen Gehalt an Mucin sich auszeichnet. Zu dem Schleimgewebe rechnet man das Gewebe der Wharton'schen Sülze des Nabelstranges in früheren Embryonalperioden, sowie diejenige Substanz, welche den *Sinus rhomboidalis* des Rückenmarkes bei den Vögeln ausfüllt: ferner ist es bei den Fischen häufig, namentlich in den elektrischen und pseudoelektrischen Organen, und auch bei Wirbellosen (Heteropoden, Medusen u. a.) wurde das Gallertgewebe nachgewiesen (Rollett[1]). Die zweite Form umfasst das fibrilläre Bindegewebe, welches durch das Auftreten einer eigenthümlichen immer unverzweigten Faser (Bindegewebsfibrillen) charakterisirt ist. Aus dem fibrillären Bindegewebe bestehen beim Menschen: die Bänder des Skelettes, das Periost und Perichondrium, die Aponeurosen, Fascien, Sehnen, die fibrösen Häute, das Stroma der serösen Häute, der meisten Schleimhäute, der äusseren Haut, das subseröse, subcutane und submucöse Bindegewebe. Es kommt vor in den gefässtragenden Häuten des Auges und der Nervencentralapparate und als interstitielles Bindegewebe der meisten Organe (Rollett, l. c., S. 61). Abgesehen von Eiweiss und Mucin sind noch drei Proteïnsubstanzen aus dem Bindegewebe isolirt worden, nämlich: das Glutin, das Chondrin und das Elastin.

1. Glutin, Gelatine, Leim, Knochenleim, Osseïn. Das fibrilläre Bindegewebe, sowie die organische Grundsubstanz der Knochen löst sich beim Kochen mit Wasser auf und die klare Lösung erstarrt beim Erkalten zu einer Gallerte — dem Glutin. Die Umwandlung der leimgebenden Stoffe zu Glutin geschieht schneller und erfolgt in einigen Minuten, wenn man die Flüssigkeit ein wenig ansäuert (Frémy[2]). Das reine Glutin ist farblos, glasartig, durchsichtig, geruch- und geschmacklos. Glutin quillt in kaltem Wasser auf und löst sich in warmem zu einer klebrigen opalescirenden Flüssigkeit, die beim Erkalten gallertartig erstarrt. Manche Salze, wie Kochsalz, Salmiak, Salpeter, sowie verdünnte Säuren verhindern das Gelatiniren einer Leimlösung. In Alkohol und Aether ist Glutin unlöslich und wird aus der wässerigen Lösung durch Alkohol als eine zähe elastische Masse gefällt. In der wässerigen Glutinlösung erzeugt Ferrocyankalium keinen Niederschlag, ebenso wenig neutrales oder basisches Blei; Quecksilberchlorid trübt die Glutinlösung, der Niederschlag löst sich Anfangs beim Umrühren wieder auf, wird aber bei Zusatz eines Ueberschusses von Quecksilbersalz bleibend. Salpetersaures Silber, Goldchlorid und schwefelsaures Kupfer fällen die Leimlösung nicht, Platinchlorid fällt sie. Alaun bringt in einer Glutinlösung keinen Niederschlag hervor; setzt man aber mehr Kali hinzu, so entsteht ein Niederschlag, welcher aus Leim

[1]) Stricker's Handbuch d. Lehre v. d. Geweben. Leipzig 1871, S. 47.

[2]) Ann. chim. phys. [3] **48**, 48.

und basisch-schwefelsaurer Thonerde besteht. Schwefelsaures Eisenoxyd verhält sich ebenso (Mulder[1]). Verdünnte Mineralsäuren, sowie organische Säuren (mit Ausnahme der Gerbsäuren) trüben die Leimlösung nicht.

Glutinlösung polarisirt links; beim Erwärmen nimmt das Drehungsvermögen ab: bei 25° ist es = — 130°, bei 40° = — 123°; durch Zusatz von Aetzalkalien oder Säuren wird das Drehungsvermögen schwächer. Längere Zeit mit Wasser gekocht, verändert sich das Glutin und verliert allmählich die Eigenschaft, beim Erkalten zu gelatiniren; die Flüssigkeit liefert dann beim Abdampfen einen harzigen hygroskopischen Rückstand. In viel Glycerin ist Glutin bei gewöhnlicher Temperatur löslich, bedeutend leichter in der Wärme und bildet damit beim Erkalten eine Gallerte (J. M. Maisch[2]). Die Angabe, als ob Glutin in leukämischem Blute enthalten sei, konnte v. Gorup-Besanez[3]) nicht bestätigen; der darin enthaltene leimähnliche Körper ist optisch unwirksam (vergl. auch Blutcasein). In seinem Verhalten gegen concentrirtere Säuren, Alkalien, Oxydationsgemische, Fermente u. s. w. verhält sich Glutin ähnlich wie die Eiweisskörper (seine Spaltungsproducte s. weiter unten). Die Elementaranalysen der verschiedenen leimgebenden Stoffe und des Glutins lieferten folgende Zahlen:

| | Scherer[4]) | | | Frémy[5]) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| C . . . | 50.5—49.4 | 49.6—50.9 | 51.0 | 49.9 | 49.2—50.4 | 49.1 | 49.8 |
| H . . . | 6.9 | 7.1 — 7.2 | 7.0 | 7.3 | 7.8— 6.5 | 6.8 | 7.1 |
| N . . . | 18.8 | 18.4—18.3 | 18.7 | 17.2 | 17.9—16.9 | — | — |

| | Mulder[6]) | | v. Goudoever[7]) |
|---|---|---|---|
| | 8 | 9 | 10 |
| C. . . . . | 49.4 | 50.1 | 48.9 |
| H. . . . . | 6.6 | 6.6 | 6.5 |
| N. . . . . | 18.4 | 18.3 | 17.4 |

1 Hausenblase bloss durch Auskochen mit Aether von Fett befreit. 2 Mit Wasser und etwas Salpeter macerirte, sodann mit Wasser, Alkohol und Aether ausgewaschene Sehnen. 3 Mit Alkohol und Aether ausgekochte Sclerotica. 4 Ossein aus Kalbsknochen. 5 Aus Rindsknochen. 6 Entenknochen. 7 Karpfenknochen. 8 Glutin aus Hirschhorn. 9 Aus Hausenblase. 10 Glutin durch Kochen verändert.

[1]) Pogg. Ann. **40**, 281.
[2]) Maly's Jahresber. 1871, S. 18.
[3]) Ebendaselbst 1874, S. 126.
[4]) Ann. Chem. Pharm. **40**, 46.
[5]) Ann. chim. phys. [3] **48**, 48.
[6]) Pogg. Ann. **40**, 279.
[7]) Ebendaselbst **45**, 62.

Die Differenzen in den Analysen sind jedenfalls zum Theil durch nicht hinreichende Reinigung des fibrillären Bindegewebes — Beimengung von Mucin aus der Kittsubstanz und Eiweiss aus den Bindegewebszellen — bedingt. Der Schwefelgehalt des Glutins ist nach Schlieper[1]) und Verdeil[2]) gleich 0.6 bis 0.7.

Leimgebendes Gewebe und Leim finden in der Technik vielfache Anwendung. Nicht nur Leim, sondern auch das leimgebende Gewebe giebt mit Gerbsäure eine in Wasser unlösliche, der Fäulniss widerstehende Verbindung, bekannt unter dem Namen Leder. Die Verbindungen, welche durch Fällung der Leimlösung mit Quecksilberchlorid oder schwefelsaurem Eisenoxyd entstehen, sind ebenfalls unlösliche, nicht fäulnissfähige Substanzen. Leimgebende Stoffe, wie z. B. thierische Haut, verhalten sich in einer Auflösung von Chloraluminium oder von Alaun und Kochsalz ganz auf dieselbe Weise. Auf der Fällung des Leims durch Thonerde beruht die Darstellung des weissgahren und ungarischen Leders; der gewöhnliche Leim, Tischlerleim, wird erhalten, indem man Hautabfälle, Hufe, Knochen, Hirschhorn, Kalbsfüsse u. s. w. einige Zeit mit Wasser bei gewöhnlichem oder etwas erhöhtem Luftdruck kocht, die Flüssigkeit, nachdem das leimgebende Gewebe gelöst ist, durch Absetzen sich klären und die klare Lösung in hölzernen Formen erkalten lässt. Die steife Gallerte wird dann in Scheiben geschnitten und an der Luft getrocknet. Zur Darstellung der Knochengallerte oder Gelatine werden die Knochen zuerst mit kaltem Wasser abgewaschen und zur Entfernung von Unreinigkeiten und Fett mit Wasser ausgekocht, worauf sie in der Kälte mit 5 Proc. Salzsäure macerirt werden, um die Kalksalze zu lösen; das zurückbleibende Gewebe wird danach durch Kochen mit Wasser in Leim verwandelt. Statt das Fett durch Auskochen mit Wasser abzuscheiden, kann es auch durch Schwefelkohlenstoff entzogen werden. Um möglichst farblosen Leim zu erhalten, hat man das gekalkte und ausgewaschene Leimgut zuerst mit schwefliger Säure behandelt. Die besseren im Handel vorkommenden Gelatinesorten sind ein bereits sehr reines Glutin (sie enthalten nur 1 bis 2 Proc. Asche). Reine Gelatine dient zur Darstellung von Gallerten oder Gelées. Die Hirschhorngallerte (*Gelatina cornu cervi*) ist officinell. Glutinlösung dient zum Klären gerbstoffhaltiger Flüssigkeiten (Wein, Bier), indem der sich ausscheidende gerbsaure Leim die fein suspendirten Unreinigkeiten einhüllt und mit sich reisst. Leim in Lösung mit arabischem Gummi und Zucker vermischt und verdampft giebt den Mundleim. Mit Zuckersyrup oder Glycerin vermischt bildet Leim eine elastische, nicht erhärtende Masse, welche zur Darstellung der Schwärzewalzen der Buchdrucker und zum Abformen benutzt wird.

Permanente Knorpel sowie die Knochenknorpel vor ihrer Verknöcherung geben mit Wasser keinen Leim, sondern Chondrin (s. d. Art.).

2. Elastin. Die elastischen Fasern, welche fast in allem Bindegewebe sichtbar werden, wenn man dasselbe durch Behandeln mit Essigsäure oder Kochen durchsichtig macht, treten an einzelnen Orten, z. B. im Nackenband der Thiere, in den gelben Bändern der Wirbelsäure, in der *Tunica elastica* der Arterien in so grosser

[1]) Ann. Chem. Pharm. **58**, 378.

[2]) Ebendaselbst **58**, 317.

Menge auf, dass man dort auch von einem selbständigen elastischen Gewebe spricht (Rollett[1]). Aus der Schale und der Dottermasse in Eiern der Ringelnatter hat Hilger[2]) eine Substanz isolirt, die ihrem Verhalten nach Elastin ist. Die elastischen Fasern werden von concentrirter Essigsäure nicht verändert, sie widerstehen auch bei gewöhnlicher Temperatur der Kali- und Natronlauge sehr lange. Die letztere giebt eines der besten Mittel ab, sie im Bindegewebe hervortreten zu lassen. Mit Wasser wenigstens so lange gekocht, als nothwendig ist, um das Collagen des Bindegewebes in Leim zu verwandeln, werden die elastischen Fasern nicht gelöst. Lange anhaltendes Kochen dagegen (Joh. Müller[3]), sowie dreistündiges Erhitzen auf 160° (M. Schultze[4]) löst sie zu einer bräunlichen, nicht gelatinirenden, nach Leim riechenden Flüssigkeit, die durch Gerbsäure gefällt wird. Das mit Alkohol, Aether, Essigsäure und Alkalien gereinigte Nackenband wird als Elastin bezeichnet und stellt im trockenen Zustande eine spröde, gelbliche, deutlich faserige Substanz dar. In Wasser quillt es stark auf und zeigt, mikroskopisch untersucht, noch die wohlerhaltenen elastischen Fasern. Das Elastin ist vollkommen unlöslich in Wasser, Alkohol und Aether, selbst nach mehrtägigem Kochen in concentrirter kochender Essigsäure. Mit concentrirter Kalilösung gekocht, löst es sich unter bräunlicher Färbung. Die Lösung, nach Neutralisirung mit Schwefelsäure eingedampft, gelatinirt nicht und wird durch Säuren, mit Ausnahme von Gerbsäure, nicht gefällt. Das Elastin ist schwefelfrei; 100 Theile enthalten:

| | Tilanus[5]) 1 | W. Müller[6]) 2 | Hilger[7]) 3 |
|---|---|---|---|
| C . . . . . | 55.65 | 55.46 | 54.68 |
| H . . . . . | 7.41 | 7.41 | 7.24 |
| N . . . . . | 17.74 | 16.19 | 16.37 |
| O . . . . . | 19.20 | 20.89 | 21.10 |

1 Aus Nackenband mit Essigsäure, Wasser, Alkohol und Aether gereinigt. 2 Mittel aus vier Analysen. Präparate wie von Tilanus dargestellt, ausserdem noch mit Kalilauge gereinigt. 3 Aus Schlangeneiern.

Aus seinen Analysen berechnet W. Müller (l. c.) für das Elastin die empirische Formel: $C_{56}H_{88}N_{14}O_{16}$. Nach Zollikofer[8]) giebt das Elastin mit Schwefelsäure gekocht Leucin als einziges krystallinisches Spaltungsproduct. W. Müller (l. c.) erhielt bei gleicher Behandlung neben Leucin noch wenig Tyrosin und einen nicht krystallinischen, durch Bleiessig fällbaren Körper.

[1]) Stricker's Handbuch d. Lehre v. d. Geweben. Leipzig 1871, S. 59.
[2]) Deutsch. chem. Gesellsch. **6**, 166.
[3]) Ann. Chem. Pharm. **38**, 310.
[4]) Ebendaselbst 1849, S. 294.
[5]) Mulder's phys. Chem. **2**, 595.
[6]) Zeitschr. ration. Med. 1861, S. 181.
[7]) Deutsch. chem. Gesellsch. **6**, 166.
[8]) Ann. Chem. Pharm. **82**, 176.

## III. Die thierischen Schleimstoffe.

Mucin. Paralbumin. Colloïdin. Das Mucin kommt namentlich in den Geweben der Weichthiere vor, jedoch ist es auch in den Geweben der Wirbelthiere ziemlich verbreitet. So im embryonalen Bindegewebe; auch die Kittsubstanz des reifen Bindegewebes giebt in Kalk- oder Barytwasser gelöst eine Fällung, aus Mucin bestehend. Ferner wird die durch Essigsäurezusatz eintretende Trübung im Zellinhalt als durch ihren Gehalt an Mucin bedingt angesehen. Das Mucin ist ferner ein Secret der sämmtlichen Schleimdrüsen und findet sich auch in den Speicheldrüsen. Pathologisch kommt es vor in den Schleimgeschwülsten (Myxomen). Am besten wird das Mucin aus den Weinbergschnecken dargestellt. Es ist eine graue oder weissliche Masse, die in Wasser aufquillt und eine zähe fadenziehende Flüssigkeit bildet; die Gegenwart von Alkali- oder Kochsalzen befördert das Aufquellen. Zusatz von Alkohol fällt das Mucin aus der wässeriger Lösung. In Alkalien und alkalischen Erden ist Mucin leicht löslich. Die Lösung wird durch Säuren (Kohlensäure ausgenommen) gefällt, jedoch löst sich der Niederschlag schon im geringen Ueberschusse der Mineralsäure leicht auf. Essigsäure fällt selbst im grössten Ueberschusse das Mucin aus alkalischer Lösung vollständig. Von den Metallsalzen fällt nur Bleiessig das Mucin. Durch Tannin oder Ferrocyankalium wird es nicht gefällt. Magensaft löst das Mucin nicht auf. Durch Membrane von vegetabilischem Pergament diffundirt es nicht.

Aus den mucinhaltigen Geweben wird dasselbe erhalten durch Zerreiben des betreffenden Gewebes mit Glas oder Sand, Ausziehen mit Wasser und Fällen mit überschüssiger Essigsäure. Aus den mit Sand zerriebenen Weinbergschnecken hat Eichwald[1]) den Schleimstoff durch Kochen mit Wasser und Fällen des Filtrates mit Essigsäure erhalten; der Niederschlag wurde durch Lösen in Kalkwasser und Fällen mit überschüssiger Essigsäure gereinigt. Das Mucin enthält keinen Schwefel und weicht in seiner procentischen Zusammensetzung ziemlich von der der Eiweissstoffe ab. In 100 Theilen Mucin wurde gefunden:

| | Scherer[2]) | Obolensky[3]) | Eichwald[4]) | Hilger[5]) |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| C . . . . . . . . . . | 50.6 | 52.2 | 48.9 | 48.8 |
| H . . . . . . . . . . | 6.6 | 7.2 | 6.8 | 6.9 |
| N . . . . . . . . . . | 10.0 | 11.9 | 8.5 | 8.8 |

1 Aus einer thierischen schleimhaltigen Flüssigkeit. 2 Aus Submaxillardrüse. 3 Aus Weinbergschnecken. 4 Aus der schlauchförmigen Lederhaut von Holothurien; sämmtliche Präparate mit Essigsäure gefällt.

[1]) Ann. Chem. Pharm. **134**, 177.
[2]) Ebendaselbst **57**, 196.
[3]) Pflüger's Archiv **4**, 336.
[4]) Ann. Chem. Pharm. **134**, 177 und Beiträge. S. 179.
[5]) Pflüger's Archiv 1870, S. 169.

Die Analysen 3 und 4 stimmen gut überein. Die Analysen 1 und 2 zeigen, dass es vielleicht verschiedene Mucine giebt; jedoch könnten die Differenzen auch durch Beimengung von Eiweissstoffen bedingt werden. Kocht man Mucin mit verdünnter Schwefelsäure, so enthält die Flüssigkeit nach 25 bis 30 Minuten einen Wismuth, Kupferoxyd und Indigo kräftig reducirenden Körper, der bei weiterem Kochen wieder verschwindet. Gleichzeitig wird eine Albuminsubstanz gebildet (Eichwald, Obolensky, l. c.). Nach Städeler[1]) giebt Mucin, mit Schwefelsäure gekocht, neben Leucin über 4 Proc. Tyrosin, also noch mehr als die Eiweisskörper.

Das Paralbumin bildet den charakteristischen Inhalt derjenigen Ovarialcysten, die sich durch einen ausserordentlich schleimigen fadenziehenden Inhalt auszeichnen und wurde zuerst von Scherer[2]) untersucht. Das Paralbumin unterscheidet sich nach demselben vom Albumin dadurch, dass es durch Erhitzen, selbst nach Zusatz von etwas Essigsäure, nicht vollständig coagulirt und dass es, durch Alkohol gefällt, sich wieder in Wasser auflöst. Nach Waldeyer[3]) ist die Flüssigkeit der Graaf'schen Follikel eine fast reine Paralbuminlösung und wird der Nachweis des Paralbumins, z. B. in Punctionsflüssigkeiten aus dem Abdomen, als charakteristisch für Ovarialcystome, gegenüber der Ascitesflüssigkeit betrachtet. Jedoch soll es nach Hilger[4]) auch in Ascitesflüssigkeiten vorkommen. Liebermann[5]) erhielt es aus einer dünnflüssigen Flüssigkeit von einer Cyste aus der Halsgegend. Mit Wasser mischt sich Paralbuminlösung in jedem Verhältniss, aber nur vermöge seines Alkaligehaltes; denn durch viel Wasser und Kohlensäure, oder sehr verdünnte Essigsäure wird es ausgefällt. Durch Alkohol wird das Paralbumin mit einem Theile des Alkalis gefällt. In diesem Niederschlage ist ausserdem ein Körper enthalten, der in Wasser wie Glycogen mit milchiger Opalescenz löslich, in Alkohol unlöslich ist, der mit verdünnter Schwefelsäure gekocht Kupferoxydhydrat und Wismuthoxyd reducirt und mit Aetzalkali sich bräunt (Hoppe-Seyler). Demnach ist das Paralbumin keine homogene Substanz. Plosz und Obolensky[6]) finden, dass das Paralbumin ein Gemenge von Eiweiss mit einem dem Mucin nahe stehenden Stoffe sei (vergl. dagegen Eichwald[7]), welcher feucht eine weisse schleimige, dem gefällten Syntonin ähnliche Masse bildet, in heissem Wasser löslich ist, sich daraus in Häuten abscheidet und trocken grau und spröde ist. Aus der Lösung ist er durch Alkohol und Quecksilberoxydsalze fällbar, aber nicht durch Säuren und Kupfervitriol. Nach dem Kochen mit verdünnten Mineralsäuren giebt die von schmutzig braunen Flocken filtrirte Lösung Reduction von Kupferoxyd, Wismuthoxyd, Indigo und Bräunung mit Kali, aber keine Polarisationswirkung. Die mit Säuren nicht gekochte Substanz gab C 49.7; H 7.6; N 7.4 bis 8.8 Proc. Mit mässig verdünnter Schwefelsäure gekocht, gab das Paralbumin Leucin und Tyrosin.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **111**, 12.
[2]) Ebendaselbst **82**, 135.
[3]) Maly's Jahresber. 1871.
[4]) Ann. Chem. Pharm. **160**, 338.
[5]) Maly's Jahresber. 1875.
[6]) Ebendaselbst 1871, S. 15.
[7]) Beiträge zur Chemie d. gewebbildenden Substanzen. Berlin 1873, S. 188.

Haerlin[1]) fand in dem durch Alkohol gefällten, also nicht weiter von Eiweissstoffen gereinigten Paralbumin C 51.8; H 6.9; N 12.8; O 26.8; S 1.7 Proc.

Die von Scherer als Metalbumin beschriebene Substanz, erhalten aus einer durch Paracentese entleerten, schleimig zähen, hydropischen Flüssigkeit, scheint auch zu den Schleimstoffen zu gehören, ist jedoch nicht näher untersucht worden.

Das Colloïdin. So bezeichnen Gautier, Cazeneuve und Daremberg[2]) die von ihnen aus einer colloïdartigen Geschwulst des Eierstockes erhaltene Substanz. Die Geschwulst wurde mit Wasser auf 100° erhitzt, das Filtrat der Dialyse überlassen und mit Alkohol gefällt. Das Colloïdin ist löslich in Wasser, nicht durch Hitze coagulirbar, weder durch Essigsäure noch durch Metallsalze fällbar. Millon's Reagens färbt es schön roth. Durch Tannin werden die Lösungen gefällt, ebenso durch Alkohol; die getrocknete Fällung gleicht dem arabischen Gummi. Das Colloïdin enthält in 100 Theilen: C 46.15, H 6.95, N 6.00, O 40.80.

## IV. Die Proteïnsubstanzen der epidermoïdalen Gebilde.

Aus der Resistenz der thierischen Zellwandungen gegen concentrirte Essigsäure und Alkalien wird geschlossen, dass dieselben aus Elastin oder ihm nahestehender Proteïnsubstanz bestehen. Man hat jedoch bis jetzt nicht die Zellmembrane von frischen Zellen, wie z. B. der Epithelzellen der Mundhöhle, der Speiseröhre, der Fettzellen, für die Analysen in hinreichender Menge dargestellt. Man weiss nur, dass z. B. Membrane der Epithelzellen der Mundhöhle, von Eiweissstoffen völlig gereinigt, durch Salpetersäure gelb, durch Millon'sches Reagens roth gefärbt werden und sich in rauchender Salzsäure zu einer allmählich blau werdenden Flüssigkeit lösen (Hoppe-Seyler[3]). Sie stimmen in diesen Reactionen mit den Eiweissstoffen überein. Die obersten Epidermiszellen (Keratinzellen), an denen durch Behandlung mit Natronlauge eine Membran leicht nachzuweisen ist, entstehen durch eine eigenthümliche chemische Umwandlung des Protoplasmas der tiefer liegenden Zellen, die man als Verhornung bezeichnet und die sich durch das Schwinden des Zellenkerns documentirt. Dass die Verhornung nicht eine einfache Eintrocknung ist, ergiebt sich schon aus dem Umstande, dass die Verhornung auch dann eintritt, wenn die Epidermis stets feucht erhalten wird, wie z. B. bei den im Wasser lebenden Säugethieren oder beim Fötus. Zu den epidermoïdalen Bildungen gehören die Nägel, die Hufe und andere Horngebilde. Die Haare bestehen aus ihnen eigenthümlichen Zellen. Ueber die Natur der Eiweissstoffe, aus denen diese Gebilde bestehen, ist nur wenig bekannt. Der Rückstand, der nach ihrer Auskochung mit Aether, Alkohol, Wasser und verdünnten Säuren hinterbleibt, wird mit dem allgemeinen Namen Keratin bezeichnet. Von concentrirten Alkalien wird das Keratin beim Erhitzen ziemlich leicht unter Entwickelung von Ammoniak gelöst; die alkalische Lösung giebt, mit Säure neutralisirt, unter Entwickelung von Schwefelwasserstoff einen amorphen Niederschlag. In Essigsäure quellen diese Gewebe, ohne dabei ihre Structur wesent-

---

[1]) Chem. Centralbl. 1862, Nr. 56.

[2]) Bull. soc. chim. **22**, Nr. 3.

[3]) Physiol. Chem. **1**, 91.

lich zu verändern. Von concentrirter Essigsäure werden sie dagegen allmählich beim Kochen gelöst. Mit Schwefelsäure gekocht, geben sie viel Leucin und etwa 4 Proc. Tyrosin. Die verschiedenen Hornsubstanzen enthalten etwas über 1 Proc. Asche, aus Erdphosphaten, schwefelsauren Salzen und Eisen bestehend. Die Asche von Haaren und Vogelfedern enthält neben Eisen auch Kieselerde. Die Elementaranalysen der verschiedenen Hornsubstanzen lieferten folgende Zahlen:

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C . . . . . . . | 50.28 | 51.53 | 50.6 | 51.00 | 51.03 | 51.41 | 51.68 | 54.89 |
| H . . . . . . . | 6.76 | 7.03 | 6.36 | 6.94 | 6.80 | 6.96 | 6.87 | 6.56 |
| N . . . . . . . | 25.01 | 22.32 | 20.85 | 21.75 | 22.51 | 19.49 | 21.97 | 19.56 |
| S . . . . . . . | 0.74 | 2.48 | 5.00 | 2.80 | 3.42 | 4.23 | 3.00 | 2.22 |

1 Gereinigte Epidermis von der Fusssohle des Menschen (Mulder[1]). 2 Abgekratztes Epithel von den Barten des Wallfisches (Gorup-Besanez[2]). 3 Haare (Laer[3]). 4 Nägel (Mulder, l. c.). 5 Kuhhorn (Tilanus[4]). 6 Pferdehufe (Mulder, l. c.). 7 Fischbein (von Kerkoff[5]). 8 Schildpatt (Mulder, l. c.).

Aus diesen Analysen geht hervor, dass die elementare Zusammensetzung der Hornsubstanzen wesentlich von der des Elastins abweicht. Sie sind gerade durch ihren hohen Schwefelgehalt ausgezeichnet. Nach v. Bibra[6]) enthält die Schafwolle nur 0.87 Proc. Schwefel, menschliche Haare dagegen nie unter 3 Proc. In einigen, namentlich in rothen Haaren, wurde 7.7 bis 8.2 Proc. Schwefel gefunden.

## V. Pflanzeneiweissstoffe.

Die Eiweissstoffe der Samen der Getreidearten, der Hülsenfrüchte und Oelsamen werden von Ritthausen[7]) in folgende Gruppen angeordnet:

1. Eiweiss, Pflanzeneiweiss oder Pflanzenalbumin.
2. Pflanzencaseïne. a) Gluten-Caseïn. b) Legumin. c) Conglutin.
3. Kleberproteïnstoffe oder die Gruppe des Pflanzenleims. a) Gluten-Fibrin. b) Gliadin. c) Mucedin.

Die einzelnen Gruppen sind nicht nur durch gewisse allgemeine Eigenschaften von einander verschieden, sondern auch theilweise durch ihre Zusammensetzung und durch das Mengenverhältniss der Zersetzungsproducte, welche sie bei dem gleichen Zersetzungsverfahren liefern. Man hat bis jetzt keine von den pflanzlichen Proteïnsubstanzen gefunden, die als identisch mit einer der thierischen Proteïnsubstanzen zu erachten wäre, obgleich die thierischen und pflanzlichen Proteïne in ihrem all-

[1]) Versuch einer allgem. physiol. Chemie. Braunschweig 1844 bis 1851.
[2]) Ann. Chem. Pharm. **61**, 49.
[3]) Ebendaselbst **45**, 174.
[4]) Scheikund. Onderz. **3**, 430.
[5]) Ebendaselbst **2**, 347.
[6]) Ann. Chem. Pharm. **96**, 289.
[7]) Ritthausen, Die Eiweisskörper. Bonn 1872.

gemeinen chemischen Verhalten und Zusammensetzung als nahe verwandt betrachtet und mit Recht zu einer Gruppe gezählt werden können.

1. Pflanzeneiweiss, Pflanzenalbumin. Mit diesem Namen wird allgemein der in Wasser lösliche Proteïnkörper bezeichnet, welcher beim Erhitzen oder Verdampfen der wässerigen Lösung von einem Samen oder überhaupt einem Pflanzentheil ohne oder nach Zusatz einiger Tropfen Säure coagulirt und sich dabei in unlöslicher Form abscheidet. Bei Hülsenfrüchten und den meisten Oelsamen ist es die Substanz, welche nach Ausfällung des Pflanzencaseïns beim Erhitzen coagulirt. Die von den verschiedenen Samen erhaltenen Materien zeigen ziemlich gleichen Gehalt an Kohlenstoff, Wasserstoff und Schwefel, während die Gehalte an Stickstoff ziemlich bedeutend differiren, so dass es kaum zulässig ist, eine mittlere Zusammensetzung aus den verschiedenen Analysen abzuleiten. Ausserdem zeigen die Pflanzenalbumine verschiedener Abstammung wesentliche Unterschiede in der Löslichkeit in Säuren und Alkalien. Nach Ritthausen ist die coagulirte Substanz der Erbsen und Saubohnen leicht löslich in Kaliwasser und Essigsäure, während die übrigen sich darin als unlöslich erwiesen haben, wonach die Pflanzenalbumine nicht unter einander identisch sein können. Nach Ritthausen enthalten 100 Theile von:

| | Ricinussamen | Weizen | Gerste | Mais | Lupinen | Erbsen | Saubohnen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C . . | 53.31 | 53.12 | 52.86 | 52.31 | 52.63 | 52.94 | 54.33 |
| H . . | 7.37 | 7.18 | 7.23 | 7.73 | 7.40 | 7.13 | 7.10 |
| N . . | — | 17.60 | 15.75 | 15.49 | 17.24 | 17.14 | 16.37 |
| S . . | — | 1.55 | 1.18 | — | 0.70 | 1.04 | 0.80 |
| O . . | — | 20.55 | 22.98 | — | 21.91 | 21.75 | 21.22 |

Der Aschegehalt dieser Präparate schwankte zwischen 2.6 bis 4.6 Proc. Aeltere Analysen des Pflanzeneiweisses sind von Jones[1]) aus Roggenmehl, von Dumas und Cahours[2]), sowie von Boussingault[3]) aus Weizenmehl, von Rühling[4]) aus Kartoffeln und Erbsen ausgeführt worden. Aus den verschiedenen Mehlsorten erhält man das Pflanzenalbumin, indem man das bei der Darstellung der Kleberproteïnstoffe ablaufende Waschwasser ruhig stehen lässt, bis das Stärkemehl sich abgesetzt hat, und, nachdem es durch Decantiren in der Kälte hinreichend geklärt worden, mit einigen Tropfen Säure ansäuert und zum Sieden erhitzt. Das Coagulum wird sodann, um es von Fett zu befreien, mit Alkohol und Aether behandelt. Die Gerinnung ist nicht eine vollständige. Beim Abdampfen des vom coagulirten Eiweiss abfiltrirten Wassers scheiden sich noch mehr Proteïnstoffe ab. Wird das Filtrat mit essigsaurem Kupfer und Kali versetzt, so entsteht ein bedeutender Niederschlag, welcher ausser phosphorsaurem Kupfer noch die sämmtlichen Proteïnstoffe in Form einer Kupferoxydverbindung enthält. Oudemans fand in zwei Mehlsorten 0.26 und 0.30 Proc. coagulirbares Eiweiss und 1.55 und 1.90 Proc. nicht coagulirbare, in Wasser lösliche Eiweisskörper (Ritthausen l. c., S. 70).

[1]) Ann. Chem. Pharm. **40**, 66.
[2]) Ann. chim. phys. [3] **6**, 410.
[3]) Ebendaselbst [2] **63**, 225.
[4]) Ann. Chem. Pharm. **58**, 309.

2. Die Pflanzencaseïne. Die Hülsenfrüchte, der Buchweizen und die Oelsamen unterscheiden sich dadurch sehr wesentlich von den Getreidesamen, dass sie keine in Weingeist lösliche Proteïnstoffe (Kleberproteïnstoffe) enthalten. Sie enthalten dagegen Eiweissstoffe, welche man wegen ihrer gewissen Aehnlichkeit mit dem Caseïn der Milch unter dem Namen Pflanzencaseïne zusammenfasst. Einhof[1]) hat zuerst zu Anfang dieses Jahrhunderts in den Hülsenfrüchten einen albuminartigen Körper gefunden, den später Braconnot[2]) genauer untersuchte, seine Aehnlichkeit mit dem Milchcaseïn hervorhob und mit dem Namen Legumin bezeichnete. Liebig[3]) hat sodann mit dem Namen Pflanzencaseïn das Legumin von Braconnot benannt, indem er irrthümlicher Weise glaubte, dass nicht der geringste Unterschied zwischen dem Milchcaseïn und Legumin bestehe, und beide Substanzen für identisch erklärte. Zu den Pflanzencaseïnen zählt Ritthausen[4]) noch das Glutencaseïn, d. h. den in kaltem und kochendem Weingeist unlöslichen Bestandtheil des Klebers, und das Conglutin. Was das Vorkommen der Pflanzencaseïne betrifft, so findet sich das Legumin wesentlich in den Hülsenfrüchten, welche daneben noch etwas Eiweiss enthalten und ausserdem Proteïnkörper, welche weder mit dem Legumin noch mit dem Eiweiss in den Eigenschaften und in der Zusammensetzung genau übereinstimmen. Die Oelsamen enthalten dagegen kein Legumin, sondern nur Eiweiss oder Gluten-Caseïn. In den gelben Lupinen, süssen und bitteren Mandeln findet sich vorwiegend ein von Legumin und Gluten-Caseïn verschiedener Körper — das Conglutin, das bezüglich des Gehaltes an Stickstoff mit dem Gliadin oder Pflanzenleim übereinkommt, sich aber im Kohlenstoffgehalt und dem chemischen und physikalischen Verhalten von diesem wesentlich unterscheidet und den allgemeinen Charakter des Pflanzencaseïns darbietet. Diese drei Substanzen lösen sich in isolirtem Zustande nur wenig in Wasser auf, dagegen aber reichlich in Kaliwasser und Lösungen von basisch-phosphorsaurem Kali, welches letztere namentlich die Löslichkeit in den Hülsenfrüchten und den Samen, in deren wässerigen Lösungen es sich vorfindet, vermittelt. Aus den Auflösungen werden die Pflanzencaseïne in der Kälte durch geringen Zusatz von Säuren oder auch Lab (Cahours und Dumas) gefällt. Nach Ritthausen's Untersuchungen (l. c., S. 205) ist die Phosphorsäure ein wesentlicher Bestandtheil des Caseïns und die verschiedenen Formen des letzteren sind insgesammt Phosphorsäureverbindungen. Durch wiederholtes Auflösen des Caseïns in Kaliwasser und Fällen wird der Gehalt an Phosphorsäure zwar vermindert, indessen bleiben stets noch erhebliche Mengen davon zurück. Erst nach stundenlangem Erhitzen der salzsauren Caseïnlösung wird die Phosphorsäure grösstentheils durch Magnesialösung fällbar; demnach ist die allmähliche Abscheidung der Phosphorsäure aus dem Caseïn gleich einer Zersetzung zu erachten. Da nach dem Darstellungsverfahren des Pflanzencaseïns eine Beimengung von Lecithin nicht möglich ist (Ritthausen[5]), so ist der

[1]) Neues allgem. Journ. der Chem. und Phys. von A. Gehlen **6**, 126, 548.
[2]) Ann. chim. phys. [2] **34**, 68; **43**, 347.
[3]) Ann. Chem. Pharm. **39**, 141.
[4]) Die Eiweisskörper, S. 230.
[5]) Pflüger's Arch. **15**, 279.

Einwand Weyls[1]), als sei der Gehalt des Pflanzencaseïns an Phosphorsäure durch Verunreinigung mit Lecithin bedingt, grundlos. Ueberdies enthielten die mit Alkohol und Aether vollständig bis zur Entfernung jeder Spur der darin löslichen Stoffe extrahirten und von Ritthausen analysirten Präparate 3.58 Proc. Asche mit 3.10 Proc. Phosphorsäure.

a) Das Glutencaseïn. So nennt Ritthausen den in kaltem und kochendem Weingeist unlöslichen Bestandtheil des Klebers, das Pflanzenfibrin von Liebig, Zymom von Tadeï, unlösliches Pflanzenalbumin von Berzelius, das ist der Körper, welchen Dumas und Cahours[2]) durch Kochen des rohen Klebers mit schwachem Alkohol erhielten und welcher sich beim Erkalten der alkoholischen Lösung in Flocken absetzte. Das Klebercaseïn von Bibra[3]) scheint nach Ritthausen identisch zu sein mit der von ihm als Glutenfibrin bezeichneten Substanz. Das Pflanzencaseïn (Glutencaseïn) aus dem Samen der Getreidearten bereitet Ritthausen (l. c., S. 31) auf folgende Weise: Frisch dargestelltes Kleber wird in viele kleine Flocken zerrissen und Anfangs mit 60 bis 70 Proc., später mit 80 bis 85 Proc. Weingeist so lange digerirt, als noch beträchtliche Mengen Substanz in Lösung gehen. Die zurückbleibende Masse wurde bei niedriger Temperatur mit Kaliwasser (im Liter bis zu 2 g Kalihydrat enthaltend, wovon auf den Rückstand von 300 g frischen Klebers ein Liter genommen wird) übergossen. Die Mischung wird nun wiederholt kräftig durchgeschüttelt, woraus sich beim ruhigen Stehen nach 24 bis 48 Stunden die Stärke, die Kleie und ein Theil Fett absetzen. Aus der hauptsächlich durch fein zertheilte Fettsubstanzen milchig trüben und mit dem Heber abgenommenen Lösung wird durch Zusatz von Essigsäure oder Schwefelsäure bis zur schwach sauren Reaction das Gluten-Caseïn in dichten käsigen Flocken gefällt. Die Fällung, ohne zu filtriren, wird sodann mehrere Male durch Decantation mit Wasser gewaschen, hiernach aber nochmals mit grossen Mengen, vorher bis zu 30 bis 40° erwärmtem Spiritus von 70 Proc., indem man die Masse auf Faltenfilter brachte, ausgezogen, bis nur noch sehr geringe Mengen Substanz sich lösen; zuletzt mit absolutem Alkohol behandelt und endlich über Schwefelsäure getrocknet. Das Gluten-Caseïn von Ritthausen ist weder in kaltem noch kochendem Wasser löslich, geht vielmehr beim Kochen in eine in Säuren und Alkalien nicht lösliche Modification über, ebenso wenn es in feuchtem Zustande getrocknet wird. Von verdünnter Essigsäure wird Gluten-Caseïn nur wenig gelöst, jedoch nimmt die Löslichkeit mit der Concentration der Essigsäure zu. Auch Weinsäure und alle die Säuren, welche den frischen Kleber verhältnissmässig leicht lösen, verhalten sich wie die Essigsäure. Viel reichlicher als in wässeriger Essigsäure löst es sich in essigsäurehaltigem Weingeist. Von den verdünnten fixen Alkalien wird das frisch gefällte Gluten-Caseïn fast augenblicklich gelöst, das getrocknete quillt zuerst gallertartig auf und löst sich erst nach längerer Einwirkung. Ammoniak löst nur einen Theil der Substanz auf; beim Kochen damit erfolgt Umwandlung in die unlösliche Modification. Die alkalischen Lösungen werden durch Metallsalze gefällt. Nach Ritthausen (l. c., S. 39) lieferten Weizen und Spelt-

[1]) Pflüger's Arch. **12**, 635.

[2]) Ann. chim. phys. [3] **6**, 417.

[3]) Die Getreidearten und das Brot, S. 148.

mehl durchschnittlich 3.6 Proc. Gluten-Caseïn, Roggenmehl 1 Proc., Buchweizen 5.6 Proc. Das aschenfreie Gluten-Caseïn enthält:

| | Aus Weizen | Aus Spelt | Aus Roggen | Aus Buchweizen |
|---|---|---|---|---|
| C . . . . . . . . . . | 52.94 | 50.98 | 52.14 | 50.16 |
| H . . . . . . . . . . | 7.04 | 6.71 | 6.93 | 6.80 |
| N . . . . . . . . . . | 17.14 | 17.31 | 16.38 | 17.43 |
| O . . . . . . . . . . | 21.91 | 24.10 | 23.49 | 24.10 |
| S . . . . . . . . . . | 0.96 | 0.90 | 1.06 | 1.51 |

Gluten-Caseïn mit mässig verdünnter Schwefelsäure gekocht giebt Tyrosin, Leucin, eine grosse Menge nicht krystallisirender stickstofffreier Körper, 5 Proc. Glutaminsäure und 0.33 Proc. Asparaginsäure.

b) Das Legumin. Liebig[1]) bereitete das Legumin aus Bohnen, Linsen und Erbsen auf folgende Weise: Die Samen werden einige Stunden in warmem Wasser gequellt, bis sie in einem Porcellanmörser zu einem Brei zerreibbar geworden sind, sodann die erhaltene Masse mit dem fünf- bis sechsfachen Volumen Wasser verdünnt und auf ein feines Sieb gebracht, wo eine Auflösung von Legumin gemengt mit Stärke durchläuft. Durch mehrstündiges Stehen der Flüssigkeit lässt man das Amylum sich abscheiden, giesst die darüber stehende milchige Leguminlösung ab und fällt das Legumin durch Zusatz von verdünnter Essigsäure aus. Der Niederschlag, nachdem er gesammelt und mit Wasser gewaschen, wurde durch Aether von Fett befreit. Auf ähnliche Weise bereiteten Dumas und Cahours das Conglutin aus Mandeln. Ritthausen[2]) suchte jede Behandlung der Samen mit erwärmten Flüssigkeiten zu vermeiden und verfuhr auf folgende Weise: Die zu feinem Pulver zerstossenen Samen werden, nachdem die Schalen möglichst abgesiebt sind, mit dem sieben- bis achtfachen Gewichte kalten Wassers etwa sechs Stunden lang unter häufigem Umrühren bei einer Temperatur von 4 bis 8° digerirt; hierauf wird durch Decantiren geklärt und, nachdem sich das Ungelöste grösstentheils abgesetzt hat, die noch sehr trübe Lösung mit dem Heber abgehoben, diese durch Decantiren während 12 bis 24 Stunden bei niedriger Temperatur von darin suspendirten Stoffen möglichst befreit. Die dünnbreiige ungelöste Masse wird auf einem Haarsiebe unter Zusatz von etwas Wasser ausgewaschen und dann nochmals mit der vier- bis fünffachen Menge Wasser in der oben bezeichneten Weise extrahirt, die vereinigten Lösungen werden nach erfolgter Klärung mit sehr verdünnter Essigsäure gefällt. Die meisten Samen, wenn sie frisch gepulvert und mit wenig Wasser angerührt werden, zeigen eine mitunter sehr stark saure Reaction, demnach enthalten sie nicht genügend Alkali, um einen grösseren Theil der Proteïnsubstanz in Lösung zu erhalten. Es ist daher in allen Fällen vortheilhafter, statt mit reinem mit alkalischem Wasser (1 g Kalihydrat im Liter) die Samen zu extrahiren. In dieser Verdünnung und in der Kälte wirkt das Alkali nicht zersetzend und die Ausbeute an Pflanzencaseïn ist

[1]) Ann. Chem. Pharm. **39**, 138.
[2]) Die Eiweisskörper. S. 144.

erheblich grösser. Der durch Essigsäure erzeugte Niederschlag wird anfänglich mit schwachem, dann mit starkem Weingeist, zuletzt mit Aether bis zur völligen Entfettung gewaschen. Die so erhaltenen Pflanzencaseïne sind brüchige, leicht pulverisirbare Massen von mattem, erdigem Ansehen und meist weisser oder aschgrauer Farbe; löslich in Alkalien, theilweise auch in verdünnten Säuren. Ist die fein gepulverte Substanz rein, so löst sie sich nach einigem Umschütteln in verdünntem Alkali völlig klar auf. Das Legumin verschiedener Hülsenfrüchte einschliesslich der Asche und der Phosphorsäure enthält:

| | Erbsen | Linsen | Wicken | | Bohnen | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | | 2 | 3 | 4 | 5 |
| C . . . . . . | 50.18 | 50.91 | 50.53 | 50.81 | 49.6 | 49.6 |
| H . . . . . . | 7.13 | 6.63 | 6.93 | 6.57 | 6.79 | 6.65 |
| N . . . . . . | 16.05 | 15.98 | 16.91 | 16.43 | 13.99 | 14.50 |
| S . . . . . . | 0.37 | 0.48 | 0.38 | 0.31 | 0.41 | 0.47 |
| Asche . . . . | 2.70 | — | 1.44 | 2.11 | 3.57 | 3.54 |
| Phosphorsäure | 2.45 | 3.10 | 1.42 | 1.65 | 3.55 | 3.40 |

1 Gelbe Felderbsen, aus klar filtrirter Lösung. 2 Saubohnen, in Kali gelöst und gefällt. 3 Pferdebohnen (*Vitia faba minor*), aus klar filtrirter Lösung. 4 Weisse Gartenbohnen. 5 Gelbe Gartenbohnen.

Als Mittel der Analysen ergiebt sich für die Zusammensetzung des Legumins, Asche- und Phosphorsäure frei berechnet: Aus Erbsen, Linsen und Wicken: C 51.48, H 7.02, N 16.77, S 0.40, O 24.33; aus Bohnen: C 51.48, H 6.96, N 14.71, S 0.45, O 26.35.

Ausserdem wurde das Legumin von Rochleder[1]), Rühling[2]), Norton[3]) u. a. m. analysirt. Dumas und Cahours[4]) fanden im Mittel für Legumin von Erbsen: C 50.53, H 6.91, N 18.15, O 24.41; von Bohnen: C 50.46, H 6.65, N 18.10, O 24.27; von Linsen: C 50.69, H 6.81, N 17.58, O 24.92.

Auffallend ist der hohe Stickstoffgehalt im Vergleich zu den von Ritthausen erhaltenen Zahlen: Die Stickstoffbestimmungen wurden hier nach der Methode von Dumas aus dem Volumen bestimmt. Das Legumin, nach Ritthausen's Vorschrift bereitet, löst sich sowohl in frisch gefälltem, als auch in trockenem Zustande in Wasser nur in äusserst geringer Menge; beim Kochen damit geht es in eine in Säuren und Alkalien unlösliche Modification über. In Folge des Gehaltes an Phosphorsäure zeigt es stets saure Reaction. Frisch gefällt ist es dagegen leicht in reinem Zustande auch vollständig löslich in sehr verdünnten alkalischen Flüssigkeiten. In beträchtlicher Quantität, jedoch stets trübe, wird es auch von basisch-phosphorsauren Alkalien gelöst. Essigsäure und auch sehr verdünnte Salzsäure lösen etwas Legumin auf; die Löslichkeit in Essigsäure ist, sobald diese ziemlich concentrirt angewandt

[1]) Ann. Chem. Pharm. **46**, 155.
[2]) Ann. Chem. Pharm. **58**, 303.
[3]) Jahresber. d. Chem. 1847 u. 1848, S. 845.
[4]) Ann. chim. phys. [3] **6**, 427.

wird, beträchtlich, doch bleibt auch bei anhaltendem Erwärmen damit ein Theil ungelöst zurück. Alkalische Lösungen werden durch die meisten Metallsalze gefällt: es entstehen hierbei käsig-flockige Verbindungen des Legumins mit den Metalloxyden, mit welchen es sich in bestimmtem Verhältniss zu verbinden scheint. Nach andauerndem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure bilden sich Zersetzungsproducte, unter welchen sich neben Tyrosin und Leucin geringere Mengen Glutaminsäure, dagegen grössere Mengen von Asparaginsäure finden. Bei Gluten-Caseïn und Conglutin dagegen ist das Verhältniss dieser Säuren zu einander das umgekehrte. Legumin aus Saubohnen gab von 100 Theilen trockener Substanz: Asparaginsäure 3.5 Proc., Glutaminsäure 1.5 Proc. Das Avenin, das Norton[1]) und Johnston als einen dem Hafer eigenthümlichen Proteïnkörper bezeichneten, erkannte schon v. Bibra[2]) als ein Gemenge von Pflanzenleim und Legumin. Nach Ritthausen[3]) enthält der Hafer 1. einen sehr schwefelhaltigen Pflanzenleim (Gliadin), jedoch in verhältnissmässig geringer Menge. 2. Pflanzen-Caseïn, von der Zusammensetzung und den Eigenschaften des Legumins, jedoch mit dem Schwefelgehalt und den Löslichkeitsverhältnissen des Gluten-Caseïns; es ist in beträchtlicher Menge darin enthalten und bildet den vorwiegenden Bestandtheil unter den Proteïnstoffen des Hafers. In Folge dieses hohen Gehaltes an Caseïn erscheint diese Samenart den Hülsenfrüchten (Erbsen) sehr ähnlich.

c) Das Conglutin. Wie schon erwähnt, bezeichnet Ritthausen mit diesem Namen das Pflanzencaseïn der Lupinen und Mandeln, welches im Allgemeinen zwar die Eigenschaften des Legumins hat, jedoch sich von demselben unterscheidet 1. durch eine grössere Löslichkeit in nicht zu stark verdünnten Säuren, namentlich Salz-, Essig-, Weinsäure; 2. durch das quantitative Verhältniss von Glutamin- und Asparaginsäure, welche es beim Kochen mit Schwefelsäure als Zersetzungsproducte liefert. Die Verschiedenheit des Conglutins der Mandeln von Legumin erkannte schon Rochleder[4]). Das Conglutin ist zuerst von Proust[5]), sodann von A. Vogel[6]), Boullay[7]) aus den süssen und bitteren Mandeln dargestellt worden und als Amandin bezeichnet. Die letzteren Chemiker haben es als identisch mit dem Caseïn der Milch betrachtet. Das Pflanzencaseïn ist ausserdem von Dumas und Cahours[8]), Norton[9]) und Löwenberg[10]) analysirt worden. Dumas und Cahours fanden in 100 Theilen aschenfreiem Pflanzencaseïn:

---

1) Will's Jahresber. 1847 u. 1848, S. 1848.
2) Die Getreidearten u. das Brot, S. 323.
3) Die Eiweisskörper, S. 135.
4) Ann. Chem. Pharm. **46**, 155.
5) Journ. de phys. et de chim., d'histoire naturelle et des arts **54**, 100.
6) Journ. f. Chem. u. Phys. von Schweigger. **20**, 64.
7) Ann. chim. phys. **6**, 40.
8) Ebenda [3] **6**, 342.
9) Pharm. Centralbl. 1848, S. 241.
10) Pogg. Ann. **78**, 327.

| | Aus süssen Mandeln | Aus Pflaumenkernen | Aus Aprikosenkernen | Aus weissem Senf | Aus Haselnüssen |
|---|---|---|---|---|---|
| C . . . . . . . . . . | 50.93 | 50.93 | 50.72 | 50.83 | 50.73 |
| H . . . . . . . . . . | 6.70 | 6.73 | 5 65 | 6.72 | 6.95 |
| N . . . . . . . . . . | 18.77 | 18.64 | 18.78 | 18.58 | 18.76 |

Ritthausen[1]) fand in 100 Theilen Conglutin:

| | Aus süssen Mandeln | Aus bitteren Mandeln | Aus gelben Lupinen | Aus blauen Lupinen |
|---|---|---|---|---|
| C . . . . . . . . . . | 50.24 | 50.63 | 50.83 | 50.66 |
| H . . . . . . . . . . | 6.81 | 6.88 | 6.92 | 7.03 |
| N . . . . . . . . . . | 18.37 | 17.97 | 18.40 | 16.65 |
| S . . . . . . . . . . | 0.45 | 0.40 | 0.91 | 0.45 |
| O . . . . . . . . . . | 24.13 | 24.12 | 23.24 | 25.21 |

Demnach enthält das Conglutin der gelben Lupinen doppelt so viel Schwefel als das der blauen Lupinen und der Mandeln. Die Analysen des Conglutins verschiedener Autoren zeigen übrigens die grösste Uebereinstimmung unter den Analysen pflanzlicher Eiweisskörper. Die Darstellungsmethoden desselben sind genau die gleichen wie die oben angegebenen des Legumins aus Hülsenfrüchten. Durch kochende, etwas verdünnte Schwefelsäure wird es zersetzt, und unter den Zersetzungsproducten finden sich neben Tyrosin, Leucin und einer grossen Menge syrupartiger stickstoffreicher Massen Glutaminsäure und Asparaginsäure.

Conglutin aus Mandeln und Lupinen verhält sich ganz gleich; letzteres gab 4 bis 5 Proc. Glutaminsäure, 2 Proc. Asparaginsäure.

3. Kleberproteïnstoffe. Wird Weizenmehl mit 70 bis 80 Proc. seines Gewichtes Wasser angerührt und die Mischung etwa eine halbe Stunde stehen gelassen, so entsteht ein Teig, der — nachdem man ihn so lange unter fliessendem Wasser ausgeknetet hat, als dasselbe noch durch Aufnahme von Stärkemehl milchig getrübt wird — als eine gelblich-graue elastische, in Wasser unlösliche Masse hinterbleibt, die man mit dem Namen Gluten oder Kleber bezeichnet. Diese Masse enthält den grössten Theil der Proteïnstoffe des Weizens mit Resten anderer Bestandtheile des Mehls (Stärke, Kleie, Asche, Fett) und wurde so von Beccari[2]) (gest. 1766) erhalten. Taddeï[3]) zeigte dann 1820, dass der Kleber durch Alkohol in zwei verschiedene Stoffe zerlegt werden kann, indem ein Theil davon in Alkohol sich löst: das Gliadin, der andere: das Zymom, ungelöst zurückbleibt. Liebig[4]) bezeichnet dann das Gliadin mit dem Namen Pflanzenleim, das Zymom mit dem Namen Pflanzenfibrin. Nach Ritthausen[5]) ist der Kleber ein Gemenge von mindestens vier Proteïn-

[1]) Die Eiweisskörper, S. 200.
[2]) De frumento Common. Bonnon. **1**, [1] 122.
[3]) Schweigg. Journ. **29**, 514.
[4]) Ann. Chem. Pharm. **39**, 147.
[5]) Die Eiweisskörper, S. 28.

ubstanzen, von denen das in Alkohol unlösliche Gluten-Caseïn ein Pflanzencaseïn ist, die drei anderen in Weingeist löslichen mit den Namen: Glutenfibrin, Gliadin und Mucedin, bezeichnet werden. Da ausserdem Weizenmehl gewöhnliches, in der Hitze gerinnendes Eiweiss enthält, so kommen darin fast alle Modificationen der Pflanzenproteïnstoffe vor. Bei keiner der anderen Getreidearten lässt sich in gleich einfacher Weise eine so grosse Menge von Eiweisssubstanzen abscheiden; die meisten derselben geben, obwohl sie Kleberproteïnstoffe enthalten, als Mehl angewandt bei gleicher Behandlung wenig oder gar keinen Kleber. Auch in den verschiedenen Weizensorten sind wechselnde Mengen Kleber enthalten, zwischen 0.0 bis 17.4 Proc. Die hartkörnigen Sorten geben durchschnittlich mehr Kleber als die weichen mehligen Weizensorten. Nach Ritthausen's Bestimmungen enthalten im Mittel die Mehle 78.3 Proc. Stickstoff als Kleber und 21.7 Proc. in Form anderer Proteïnsubstanzen.

Um den Kleber in seine einzelnen Bestandtheile zu zerlegen, kochte Ginsberg[1]) denselben mit viel Wasser aus. Man erhält so eine Auflösung von Gliadin, das durch Verdampfen des Wassers in ziemlich reinem Zustande gewonnen wird, und eine grosse Menge Rückstand (Zersetzungsproducte des Gliadins, Mucedins und die unlöslichen Modificationen von Gluten-Caseïn und Gluten-Fibrin). Das Auskochen des Klebers mit Wasser kann demnach nur zur Darstellung von Gliadin verwandt werden (Ritthausen, l. c., S. 28).

Weingeist von gewöhnlicher Temperatur löst beträchtliche Mengen Kleber auf. Wird derselbe so oft erneuert, dass nur noch sehr geringe Mengen darin sich auflösen, so enthält der nicht gelöste Theil hauptsächlich Gluten-Caseïn, daneben Gluten-Fibrin und Gliadin. Kochender schwacher Weingeist entzieht dem Kleber das Gliadin, Mucedin, Gluten-Fibrin und wenig Gluten-Caseïn. Die beiden letztgenannten Substanzen scheiden sich dann beim Erkalten grösstentheils aus. Starker Weingeist (80- bis 50 procentiger) löst kein Gluten-Caseïn auf. Eine andere zur Trennung der einzelnen Kleber-Proteïnstoffe von Ritthausen am häufigsten angewendete Methode ist folgende: Der Kleber wird in saurem, mit Essigsäure oder Salzsäure angesäuertem, oder in kali- oder ammoniakhaltigem Wasser bei niedriger Temperatur, unter häufigem kräftigen Durchschütteln gelöst. Die unlöslichen Beimengungen setzen sich nach erfolgter Lösung der Proteïnstoffe nach ein- bis zweitägigem Stehen in der Kälte (4 bis 5°) grösstentheils ab. Die überstehende Flüssigkeit wird abgenommen und je nach dem angewendeten Lösungsmittel mit Säure oder Alkalilösung gefällt. Man erschöpft dann das sich schnell absetzende Gerinnsel von klebrigen Flocken, nachdem die klare Flüssigkeit abgegossen und dasselbe einige Male durch Wasser gewaschen ist, durch Behandlung mit kaltem Weingeist in zunehmender Stärke, so lange noch bemerkliche Mengen Substanz gelöst werden. Der Rückstand ist unreines Gluten-Caseïn, in der Lösung sind die übrigen Substanzen enthalten. Diese Methode hat den Nachtheil, dass sie viel Zeit und niedrige Temperatur erfordert.

a) Das Gluten-Fibrin. Werden die weingeistigen Auszüge des Klebers etwa auf die Hälfte ihres Volumens abdestillirt, so dass die rückständige Lösung 40 bis

[1]) Journ. prakt. Chem. 85, 213.

... so scheidet sich beim Erkalten der Lösung ... grössten Theil aus Gluten-Fibrin bestehend ... -Caseïn und beträchtlichen Mengen Fett ... mit absolutem Alkohol behandelt, bis sie voll- ... der Alkohol neben einem Theile Fett auch ... namentlich das Gluten-Fibrin auf. Wird daraus ... Flüssigkeit bis zu kleinem Volumen concentrirt, so ... Proteinkörper unter Auflösung der Fette als eine ... vollständig aus. Aus dieser Fällung kann nach ... gewonnen werden. Das weitere Verfahren ist ... das Gluten-Fibrin aus Weizenmehl, aus weingeistiger ... sehr zähe zusammenhängende Substanz. Es ist in ... theilweise beim Kochen und geht bei dauernder Be- ... sowie beim Trocknen in der Wärme in die unlösliche ... geist von 30 bis 70 Proc. löst es sich in der Hitze mit ... auf. Wiederholtes Kochen dieser Lösungen bewirkt ... in die unlösliche Modification. Verdünnte Lösungen ... oder concentrirte Lösungen beim Erkalten auf der ... klare, dicke und weisse Häute ab, die hinweggenommen ... und beim Umrühren oder Umschütteln sich wieder ... Säuren und Alkalien löst es sich leicht und ohne Veränderung ... wird es durch Neutralisation gefällt. Durch Metallsalze ... in Form flockiger, schleimiger, metalloxydhaltiger Nieder- ... gefällt. Das Mais-Fibrin, welches in seinen Eigenschaften dem ... Weizens gleicht, ist jedoch von diesem verschieden in seinem ... sowie in seinem Verhalten zu verdünnten Säuren. Es wird ... mit dem Namen Zeïn bezeichnet. Die Elementaranalysen des ... gaben aschefrei folgende Zahlen:

| | Aus Weizen | Aus Gerste | Aus Mais |
|---|---|---|---|
| . . . . . . | 54.31 | 54.55 | 54.60 |
| . . . . . . | 7.18 | 7.27 | 7.51 |
| . . . . . . | 16.80 | 15.70 | 15.58 |
| . . . . . . | 1.01 | 22.48 | 0.60 |
| . . . . . . | 20.91 | | 21.53 |

... Zersetzung durch Kochen mit Schwefelsäure wurde an krystallisirbaren ... erhalten: Tyrosin 3.2 Proc., Leucin 17.2 Proc., Glutaminsäure 10.0 Proc., ...säure 1.43 Proc.

... Das Gliadin, Glutin, Pflanzenleim. Nach Ritthausen[2]) wird das ... zweckmässigsten wie folgt bereitet: Klein zerstückelter Kleber wird zuerst

[1]) Die Eiweisskörper, S. 124.

[2]) Die Eiweisskörper, S. 53.

mit kaltem Weingeist erschöpft und der Rückstand in kaltem Kaliwasser gelöst. Die Lösung, nachdem sich Stärke und Kleie grösstentheils abgesetzt hat, decantirt und mit Essigsäure gefällt. Die Fällung darauf mit viel 70- bis 75 proc. auf 30° erwärmtem Alkohol extrahirt. Aus der Lösung scheidet sich beim Erkalten das Gliadin als zähe schleimige Substanz ab. Der erhaltene Niederschlag wird in kalter verdünnter Essigsäure gelöst, die Lösung so lange in der Kälte der Ruhe überlassen, bis sie klar geworden, darauf mit Kali gefällt, der Niederschlag mit Alkohol, Aether und wieder mit Alkohol behandelt liefert reines Gliadin, das nur Spuren von Asche enthält. In frischem wasserhaltigen Zustande ist der Leim sehr zähschleimig. Bei Einwirkung von absolutem Alkohol wird er fest und erhärtet zu einer gelblich-weissen Masse, die über Schwefelsäure getrocknet ein erdiges Aussehen erhält, etwas zäh und beim Reiben stark elektrisch ist. Stücke von getrocknetem Gliadin nehmen in der Kälte sehr langsam, schneller in der Wärme Wasser auf und bilden nach der Sättigung damit weiche, sehr klebrige weissliche Klümpchen oder Flocken. Ein Theil geht in die Lösung und giebt mit Gerbsäure Niederschläge. Nach wiederholtem Kochen mit Wasser wird das Gliadin darin unlöslich unter theilweiser Zersetzung. Schon bei geringem Alkoholgehalt des Weingeistes wird das Gliadin in bedeutend grösserer Menge davon gelöst als wie von reinem Wasser. Die Löslichkeit nimmt bedeutend zu, bis zu einem Gehalt von 60 bis 70 Proc. Alkohol, vermindert sich danach rasch wieder, und in absolutem Alkohol ist das Gliadin völlig unlöslich. In verdünnten Säuren und Alkalien löst sich das Gliadin sehr leicht auf und wird unverändert durch Neutralisation als zäh-firnissartige, sehr dehnbare Masse gefällt. Die alkalische Lösung des Gliadins giebt mit Metallsalzlösungen schleimige Niederschläge. Die essigsaure Lösung wird durch Quecksilberchlorid nicht gefällt. Die Elementaranalysen des Gliadins von Ritthausen lieferten folgende Zahlen. Aus Weizenkleber[1]: C 52.60, H 7.00, N 18.06, S 0.85, O 21.49; aus Hafer: C 52.59, H 7.65, N 17.71, S 1.66, O 20.39.

Die Gehalte an Schwefel stehen demnach fast genau in dem Verhältniss wie 1 : 2 und ist der Leim des Hafers die schwefelreichste Proteinsubstanz der Pflanzensamen oder Pflanzen überhaupt.

c) Das Mucedin, Mucin. Mit dem Namen Mucin bezeichnete Th. de Saussure[2]) diejenige Substanz des Weizenklebers, welche hinterbleibt, wenn Kleber mit Alkohol ausgekocht, die alkoholische Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt und im Wasserbade bis zur vollständigen Verjagung des Alkohols eingedampft wird. Ritthausen[3]) verwendete zur Darstellung des Mucins aus Weizenkleber, das er zur Unterscheidung von thierischem Mucin Mucedin nannte, die weingeistigen Mutterlaugen von der Darstellung des Gluten-Fibrins oder die ersten Niederschläge aus den essigsauren Lösungen bei Gewinnung des Gliadins, indem das Mucedin in starkem Alkohol weniger löslich ist als das Gliadin. Das Mucedin ist bis jetzt nur wenig untersucht worden und zeigt im Allgemeinen die Eigenschaften des Gliadins,

[1]) Mittel aus sechs Analysen.
[2]) Biblioth. univ. de Genève. 1835. Juli, p. 200.
[3]) Die Eiweisskörper. S. 63.

von dem es sich nur noch durch die grössere Löslichkeit in Wasser unterscheidet. Nach Ritthausen hat das Mucedin aus Weizenkleber: C 54.11, H 6.90, N 16.63, O 21.48, S 0.88.

### VI. Die Proteïnkörner und krystallisirtes Pflanzeneiweiss.

In allen ruhenden Samen und auch in anderen ruhende Reservestoffe führenden Vegetationsorganen finden sich dem Ansehen nach dem Stärkemehl ähnliche Gebilde abgelagert, die aus Proteïnsubstanzen bestehen. Hartig[1]), der sie zuerst entdeckte, bezeichnete sie mit dem Namen Aleuron (ἄλευρον = feines Getreidemehl, von Hartig als Gegensatz zu Amylon gewählt). Der jetzt dafür gebräuchliche Name Proteïnkörner ist von G. v. Holle[2]) eingeführt worden. Die Proteïnkörner sind im Allgemeinen rundliche, eiförmige oder ellipsoidische Gebilde, 3 bis 12 Mikromillimeter im Durchmesser, meist farblos, doch kommen auch gefärbte vor: so rosarothe bei *Laurus indica, nobilis*, braunrothe bei *Arachis Theobroma*, grüne bei *Knautia*, *Pistacia* u. s. w. Alle Proteïnkörner sind von einem Häutchen, dem sogenannten Hüllhäutchen, umschlossen, das sich überall da ausbildet, wo sich einzelne Massen von Proteïnsubstanzen gegen ihre Umgebung isoliren. Als Einschlüsse enthalten die Proteïnkörner kugel- oder biscuitförmige Gebilde, von Pfeffer[3]) Globoïde genannt, sie fehlen in keinem Samen. Selten bestehen die Einschlüsse ausser Globoïden auch noch aus Krystallen von oxalsaurem Kalk. Nach Pfeffer enthalten die Globoïde auch Kalk, Magnesia und Phosphorsäure.

Bei der Mehrzahl der Pflanzen sind die Globoïde die einzigen Einschlüsse in den Proteïnkörnern. Bei anderen dagegen finden sich ausser den nie fehlenden Globoïden in die Substanz der Proteïnkörner eingebettet krystallisirte Eiweissstoffe, die man auch als Krystalloïde bezeichnet hat und die in der amorphen Masse der Proteïnkörner (Hüllmasse), welche auch wesentlich aus Proteïnstoffen besteht, eingebettet sind. Die Hüllmasse kann manchmal sehr spärlich sein, manchmal ganz verschwinden, und dann besteht das Proteïnkorn nur aus dem mit einem Hüllhäutchen umgebenen Krystalloïd, so z. B. die zuerst von Cohn[4]) in der Rindenschicht der Kartoffeln beobachteten Krystalloïde.

Die Proteïnkörner der Paranuss (*Bertholletia excelsa*) sind von Hartig[5]), Maschke[6]), Sachse[7]) und zuletzt von Weyl untersucht worden. Die zerkleinerten und mit Provence-Oel ausgewaschenen, sodann mit Aether entfetteten und über Schwefelsäure getrockneten Samen enthalten 9.27 bis 9.46 Proc. Stickstoff. Sie sind jedoch noch durch Zellreste verunreinigt. Um sie davon zu befreien, werden sie in sehr dichter Leinwand mit Alkohol ausgeknetet und die ersten Portionen der

[1]) Botan. Zeitung 1855, S. 881; 1856, S. 257.
[2]) Neues Jahrb. Pharm. **10**, 1.
[3]) Pringsheim's Jahrb. f. wissensch. Botanik **8**, 499.
[4]) Journ. prakt. Chem. **80**, 129.
[5]) Entwickelungsgeschichte des Pflanzenkeims. Leipzig 1858, S. 112.
[6]) Botan. Zeitung 1859, S. 410.
[7]) Die Chemie und Physiologie der Farbstoffe, Kohlehydrate und Proteïnsubstanzen. Leipzig 1877, S. 294.

ssigkeit, die beim leichten Druck hindurchgehen, zur Gewinnung der Körner
ıutzt. Sie enthalten dann 11.93 bis 12.55 Proc. Stickstoff und 14.2 Proc. Asche,
raus dann Sachse die Zusammensetzung der Proteïnkörner wie folgt annähernd
echnet: 66 bis 69 Proc. Eiweisssubstanzen, 14 Proc. Asche und 17 bis 20 Proc.
st, aus Kohlehydraten und organischen Säuren, zum Theil an Metalle gebunden,
stehend. Die Krystalloïde der Pflanzenkörner erscheinen in Tetraëdern, Rhom-
ëdern oder würfelförmigen Formen. Sie sind in Wasser unlöslich und scheinen
differenten Angaben verschiedener Autoren hierüber durch die Schwierigkeit,
Krystalle frei von den umgebenden Zellsäften zu untersuchen, und meistens nur
krochemische Beobachtungen bedingt zu sein. Nach Weyl[1]) lösen sich die
ystalle der Paranüsse leicht in 10 proc. Kochsalzlösung; sie lösen sich gleichfalls
Lösung von kohlensaurem Natron (1 Proc.), Salzsäure (0.8 Proc.), Kalilauge
1 Proc.). In Alkohol und Aether sind dagegen die Krystalloïde unlöslich.
ines Glycerin verändert die Krystalloïde nicht, sie quellen nur ein wenig darin
. Manche jedoch, wie die der Ricinussamen oder der Kartoffeln, werden von
ycerin gelöst. Zur Darstellung grösserer Mengen der Pflanzenkrystalle eignet sich
ch am besten die Paranuss. Die wie oben angegeben erhaltenen Proteïnkörner
rden mit 10 bis 12 Theilen Wasser übergossen und 40 bis 50 Minuten im Wasser-
le erwärmt. Hierbei lösen sich die Proteïnkörner sammt den Krystalloïden. Die
sung wird nun auf dem Wärmfiltrirtrichter von dem Rückstand abfiltrirt und von
uem, ohne in der Lösung zu rühren, erhitzt. Nach einigen Stunden schon
ginnt die Ausscheidung der Krystalle als weisse zusammenhängende Masse, die
ter dem Mikroskope nach Maschke[2]) als durch ebene Flächen begrenzte Ge-
lten, nach Sachse[3]) als Scheibchen, die höchstens noch hier und da verquollene
ächen an ihrer Peripherie zeigen, erscheinen. Es ist nicht rathsam, das Ab-
mpfen zu weit zu treiben, da überdies später keine krystallinische Abscheidung
ehr erfolgt. Man giesst die Mutterlauge ab und wäscht mit kaltem Wasser ab.
n schnelleres und, was die Ausbeute anbetrifft, besseres Resultat wird erzielt,
enn man in die klare filtrirte Lösung der Proteïnkörner Kohlensäure einleitet.
ie Lösung trübt sich sofort und es scheidet sich allmählich ein sehr beträchtlicher
iederschlag ab, der chemisch mit dem durch Abdampfen erhaltenen identisch ist.
0 g Proteïnkörner liefern so 5 g trockener Krystalloïde (Sachse). Im Mittel aus
inf gut stimmenden Analysen ermittelte Sachse folgende Zusammensetzung der
rystalle: C 51.00 Proc., H 7.25 Proc., N 18.06 Proc., O 21.51 Proc., S 1.36 Proc.
nd 0.82 Phosphorsäure. Die Krystalle enthielten nur 0.76 Asche. Weyl[4]), der
e Proteïnkrystalle in der Paranuss als krystallinisches Pflanzenvitellin ansieht, das
allen Reactionen mit dem Vitellin aus Eigelb übereinstimmt, bereitete es auf
lgende Weise: Die von der ihr anliegenden braunen Haut befreite und in feine
heibchen zerschnittene Frucht wird zunächst mit Aether, sodann mit Wasser
sgeschüttelt. Die am Boden des Gefässes abgeschiedenen Krystalle sodann im

[1]) Zeitschr. phys. Chem. 1, 87.
[2]) Botan. Zeitung 1859. S. 441.
[3]) Die Chemie und Physiologie der Farbstoffe, Kohlehydrate und Proteïnstoffe S. 315.
[4]) Zeitschr. phys. Chem. 1, 85.

Mörser mit wenig abgekühlter 10 proc. Kochsalzlösung zerrieben, bei niederer Temperatur filtrirt und mit Wasser und Kohlensäure gefällt. Der abgeschiedene amorphe Eiweisskörper (Pflanzenvitellin) wurde durch wiederholtes Auflösen in 10 proc. Kochsalzlösung und Fällen mit Wasser gereinigt und schliesslich zur Entfernung des Kochsalzes mit viel abgekühltem Wasser ausgewaschen. In drei verschiedenen Präparaten mit einem Aschegehalt von 2.66 bis 5.36 Proc. fand Weyl im Mittel folgende Zahlen: C 52.43 Proc., H 7.12 Proc., N 18.1 Proc., S 0.55 Proc. und 21.8 Proc. O aschefrei berechnet. Die Zahlen stimmen daher mit den Analysen Sachse's nur im N-Gehalt überein. Nach Baumhauer enthält das Vitellin aus Eigelb: C 52.7 Proc., H 7.1 Proc., N 15.5 Proc., S 0.4 Proc., O 24.3 Proc. Dumas und Cahours fanden im Vitellin aus Eigelb 15.0 Proc. N. Valenciennes und Frémy in dem Dotterplättchen der Fisch- und Schildkröteneier 15.0 bis 15.6 Proc. N. Das Pflanzenvitellin von Weyl enthält demnach fast drei Proc. Stickstoff mehr als wie die thierischen Vitelline und eine Identität beider ist daher sehr unwahrscheinlich (s. Vitellin). Hoppe-Seyler[1]) und Weyl finden ferner, dass in den Knospen, jungen Trieben und Samen von Pflanzen Eiweisskörper vorkommen, welche mit den thierischen Globulinsubstanzen in allen Reactionen übereinstimmen. Diese pflanzlichen Globuline sind jedoch zu wenig untersucht, um etwas über ihre Identität mit den thierischen Globulinen einerseits und andererseits über ihre Beziehung zu den von Ritthausen definirten pflanzlichen Eiweissstoffen sagen zu können.

## VII. Verwandlungen der Proteïnsubstanzen.

Sämmtliche Eiweissstoffe gehen sowohl durch Behandlung mit stark verdünnten Säuren oder Alkalien als auch mit den ungeformten thierischen Fermenten, wie Pepsin, Pankreatin u. s. w., in Körper über, die man mit dem zuerst von Lehmann[2]) gewählten Namen als Peptone bezeichnet. Auch in dem Pflanzenkörper sind neuerdings solche peptonbildenden Fermente nachgewiesen worden; so in den Wicken-, Hanf- und Leinsamen, sowie in dem sauren Saft aus dem Inneren des Schlauches verschiedener Nepentesarten (von Gorup-Besanez[3]). Die Einwirkung der verdünnten Säuren oder der löslichen ungeformten Fermente auf Eiweissstoffe erinnert daher lebhaft an das gleiche Verhalten dieser Reagentien gegen Kohlehydrate, die durch sie ebenfalls in die drei löslichen Modificationen übergeführt werden. Die Bildung der Peptone aus Eiweissstoffen scheint zunächst eine einfache Wasseraufnahme ohne Austritt von Kohlensäure oder Ammoniak zu sein; so namentlich bei der Einwirkung des Magensaftes auf Eiweiss, wodurch dann auch die procentische Zusammensetzung der Magenpeptone ziemlich die gleiche ist wie die des unveränderten Eiweisses. Ist die Concentration des Alkalis oder der Säure stärker, oder die Dauer der Einwirkung auf die Eiweisssubstanz länger, so wird das Eiweiss ebenfalls in nicht krystallisirende, in Wasser und verdünntem Weingeist

[1]) Phys. Chem. Berlin 1877, S. 76.

[2]) Lehrb. d. phys. Chem. 2. Aufl. **1**, 318.

[3]) Deutsch. chem. Ges. **7**, 1478; **8**, 1510; **9**, 673.

lösliche, beim Eindampfen syrupartig hinterbleibende Substanzen umgewandelt, die die Peptonreactionen zeigen. Gleichzeitig treten jedoch neben Kohlensäure und Ammoniak auch krystalloïde Producte auf: Glycocoll, Leucin, Tyrosin, Asparagin-, Glutaminsäure u. a. m. Aehnlich wie die Wirkung concentrirter Säuren oder Alkalien auf die Proteïnsubstanzen ist die des pankreatischen ungeformten Fermentes, wodurch aus Eiweiss neben Pankreaspeptonen Leucin und Tyrosin entstehen. Auch die Zersetzung des Eiweisses durch die organisirten Fermente (Fäulniss) liefert im ersten Stadium die gleichen Producte. Alle die bis jetzt aufgezählten Reagentien zersetzen das Eiweissmolekül durch Hydratation, wodurch bei fortgesetzter Einwirkung die Menge der syrupösen peptonartigen Materien stetig ab- und die der krystallinischen Producte zunimmt. Durch mehrtägiges Erhitzen der Eiweisskörper mit Barythydrat in verschlossenen Gefässen auf 150 bis 200° hat Schützenberger nur krystallinische, keine syrupösen Körper aus dem Eiweiss erhalten. Man kann also durch einfache Hydratation das Eiweissmolekül gänzlich in krystallinische und zwar relativ einfach zusammengesetzte Producte spalten. Schützenberger[1] fand, dass bei dieser völligen Spaltung der Eiweisskörper neben Kohlensäure, Oxalsäure und Ammoniak nur noch Amidosäuren entstehen, und zwar von der allgemeinen Formel:

1. $C_nH_{2n+1}NO_2$, einbasische Amidofettsäuren;
2. $C_nH_{2n-1}NO_2$, Amidosäuren der Acrylsäurereihe;
3. $C_nH_{2n-1}NO_4$, Amidosäuren der Asparaginsäurereihe;
4. das Tyrosin, eine aromatische Amidosäure.

Die relative Menge dieser krystalloïden Producte ist aus den verschiedenen Eiweissstoffen verschieden. So liefern 100 Theile von Eiereiweiss 2.03 bis 2.4, von Casein 4.12, von Hemiproteïn 2.2, von Fibrin aus Pferdeblut 3.2 bis 3.5, von Pflanzenfibrin 2.00 g Tyrosin.

Ferner machte Schützenberger die Beobachtung, dass bei der Hydratation der Proteïnsubstanzen durch Barythydrat das Gewichtsverhältniss des als Ammoniak freigewordenen Stickstoffs zu dem Gewichte der abgespaltenen Kohlensäure + Oxalsäure sehr nahe demjenigen kommt, wie es bei der Zersetzung des Harnstoffs und Oxamids zu Kohlensäure und Ammoniak entstehen müsste. Er betrachtet daher das Eiweissmolekül als ein complexes Ureïd, das etwa $^1/_5$ seines Stickstoffs in Form von Harnstoff und Oxamid enthält, indem die Wasserstoffe des Harnstoffs und Oxamids durch die Amidosäurereste in wechselnden Mengen vertreten werden. Da das Verhältniss von entstandener Oxalsäure zu Kohlensäure ein sehr wechselndes ist, so nimmt er ferner an, dass in den einzelnen Proteïnsubstanzen die Oxamidgruppe zum Theil die Harnstoffgruppe vertritt. Ob diese einfache Vorstellung über die Structur des Eiweissmoleküls sich bestätigen wird, bleibt natürlich unentschieden. Sie widerspricht der allerdings auch nicht genügend begründeten Vermuthung, dass in allen Proteïnkörpern Kohlehydrate in Verbindung mit stickstoff- und schwefelhaltenden Korpern enthalten seien. Schützenberger machte selber die Beobachtung, dass bei der Hydratation der Eiweisskörper durch Barythydrat ein dextrin-

[1] Bull. soc. chim. **23**, 161, 193, 216, 242, 385, 433; **24**, 2, 145.

artiger, Fehling'sche Lösung reducirender Körper gebildet werde; auch hätte ein Theil der Oxalsäure bei dieser Hydratation nicht aus Oxamid, sondern aus den in Eiweiss enthaltenen Zuckergruppen entstehen können. Wie oben erwähnt, geben gewisse Eiweissköper, wie z. B. das Paralbumin und das Mucin, bei der Hydratation mit Schwefelsäure Zucker. Ledderhose[1]) erhielt beim Eindampfen von Chitin mit starker Salzsäure eine alkalische, Kupferlösungen reducirende rechtsdrehende Base: das Glycosamin, dessen salzsaures Salz die Zusammensetzung $C_6 H_{11} O_6 NH_2, ClH$ hat. Da nach Städeler[2]) Chitin mit verdünnter Schwefelsäure gekocht einen amorphen Zucker liefert, und nach seinen Analysen die Zusammensetzung $C_6 H_{15} NO_6$ hat, so ist es sehr wahrscheinlich, dass das Chitin ein aminartiges Derivat eines Kohlehydrats ist. Jedenfalls wird die fortgesetzte Untersuchung der Eiweisskörper und namentlich die qualitative und quantitative Erforschung ihrer Spaltungsproducte eine mannigfache Ergänzung der Schützenberger'schen Hypothese bringen. So viel ist sicher, dass die Verschiedenheit der zahlreichen Eiweissstoffe in erster Linie durch die sie aufbauenden einfacheren Verbindungen bedingt ist. Es enthalten zweifellos einige von ihnen in ihrem Molekül die Zuckergruppe, einige, wie das Legumin und Conglutin, Phosphor. und zwar in oxydirtem Zustande. Mucin und Elastin enthalten keinen Schwefel, Leim kein Tyrosin. Ferner wird die Verschiedenheit durch die relative Menge der einzelnen sie aufbauenden Verbindungen bedingt. Erlenmeyer und Schaeffer[3]) erhielten bei der Hydratation der Proteinsubstanzen mit Schwefelsäurehydrat, mit dem 1½-fachen Gewichte Wasser verdünnt, für 100 Theile aus elastischem Gewebe 36 bis 45 Leucin und 0.25 Tyrosin; aus Blutfibrin 14 Leucin und 0.8 Tyrosin; aus Synthonin 18 Leucin und 1.0 Tyrosin; aus Eiereiweiss 10 Leucin und 1.0 Tyrosin; aus Hornsubstanz 10 Leucin und 3.6 Tyrosin.

Schliesslich kann die Verschiedenheit der Eiweissstoffe noch durch die Isomerie der Componenten selber bedingt werden. So entstehen nach meinen Beobachtungen bei der pankreatischen Fäulniss der Eiweisssubstanzen zwei isomere Leucine, die sich durch Löslichkeit, Krystallform und Geschmack von einander unterscheiden[4]).

Die Producte, welche aus den Eiweisssubstanzen durch directe Oxydation oder Reduction entstehen, sind verhältnissmässig einfach und können als Zersetzungsproducte der zuerst durch Hydratation entstandenen aufgefasst werden. Ebenso die durch die trockene Destillation entstehenden Substanzen. Nur bei der Kalischmelze und bei der Fäulniss entstehen in geringer Menge Verbindungen wie das Indol und das Skatol, deren Zusammenhang mit den durch Hydratation entstehenden Verbindungen noch nicht aufgeklärt ist. Im thierischen Organismus werden die Eiweisskörper zunächst in dem Verdauungsrohr zum Theil nur gelöst, zum Theil in Peptone, zum Theil in die krystallinischen Hydratationsproducte umgewandelt. Sie werden einerseits zu organischen Gewebsbestandtheilen, andererseits im Blute und den Geweben in eine Reihe von zum grössten Theil unbekannten Zwischenproducten

[1]) Deutsch. chem. Ges. 1876, **9**, 1200.
[2]) Ann. Chem. Pharm. **111**, 24.
[3]) Journ. prakt. Chem. **80**, 397. 1860.
[4]) Ebenda **15**, 390. 1877. Dieser Band S. 270.

wandelt und schliesslich je nach der Thierspecies als Harnstoff, Kreatin, Sarkin, thin, Guanin, Harnsäure und Hippursäure ausgeschieden. Es sind dies die rmen, in welchen der Stickstoff der Eiweisssubstanzen den Organismus verlässt. Der Kohlenstoff wird zum grössten Theil in Form von Kohlensäure durch die Respirationsorgane entfernt. Die Umwandlung des Eiweissstickstoffs in die genannten Producte ist eine fast vollständige, so dass z. B. bis zu einer gewissen Maximalgrenze die Menge des von einem hinreichend ernährten Hunde täglich in Form von Harnstoff ausgeschiedenen Stickstoffs direct der in Form von Eiweiss zugeführten Stickstoffmenge entspricht. Die Bildung dieser im Organismus entstehenden stickstoffreichen Substanzen ist bis jetzt ausserhalb desselben aus den Eiweissstoffen nicht gelungen oder wenigstens nicht sicher erwiesen. Béchamp[1]) und nach ihm Ritter[2]) geben an, durch Oxydation verschiedener Eiweissstoffe mit übermangansaurem Kali Harnstoff erhalten zu haben, den sie jedoch nicht analysirten und welcher Angabe von Städeler[3]), Löw[4]) und Tappeiner[5]) widersprochen wird. Schützenberger[6]) giebt an, durch Einwirkung von Schwefelsäure auf Eiweiss Sarkin erhalten zu haben, es fehlen aber auch hierüber genauere Angaben. Allem Anschein nach entstehen im thierischen Organismus diese Substanzen aus den Eiweissstoffen nicht durch eine einzige Reaction, sondern vielmehr durch successive Umänderung mittelst verschiedener zum Theil entgegengesetzter Einwirkungen. Dies ist um so wahrscheinlicher, als im thierischen Organismus nicht allein Oxydationsprocesse, sondern auch Reductionen und Synthesen durch Wasseraustritt vorkommen.

1. Verwandlungen der Proteïnsubstanzen durch lösliche Fermente. Peptone. Alle Peptone haben das gemeinschaftlich, dass sie in Wasser und verdünntem Weingeist löslich sind und beim Verdampfen ihrer Lösungen als amorphe hygroskopische Masse hinterbleiben, die beim Trocknen hornartig wird und stets aschehaltig ist. In absolutem Alkohol oder Aether sind sie unlöslich. Die Lösungen der Peptone lenken das polarisirte Licht nach links ab und geben in Natron oder Kali gelost mit sehr verdünnter Kupfersulfatlösung rein rosenrothe Färbung (die sogenannte Biuretreaction), die bei Gegenwart von unverändertem Eiweiss oder überschüssigem Kupfer violett oder blau wird. Es ist nicht entschieden, ob das aus einem bestimmten Eiweissstoff, z. B. aus Fibrin, entstehende Pepton ein einziger Körper oder ein Gemisch mehrerer ist. Die Angaben verschiedener Autoren darüber sind nicht übereinstimmend. So nimmt z. B. Meissner[7]) an, dass die Eiweissstoffe durch den Magensaft in mehrere Substanzen, wie das Parapepton, das Metapepton, das Dyspepton und das Pepton umgewandelt werden. Die Eigenschaften und Zusammensetzung des Peptons ändern sich je nach der Dauer der Einwirkung des Reagens (verdünnte Säure, Ferment). Allem Anschein nach sind die Peptone

---

[1]) Compt. rend. **70**, 866; **73**, 1323.
[2]) Ebenda **73**, 1210.
[3]) Journ. prakt. Chem. **72**, 251. 1857.
[4]) Kolbe's Journ. prakt. Chem. [2] **2**, 289.
[5]) Königl. Sächs. Akad. d. Wissenschaften. 1871.
[6]) Bull. soc. chim. **23**, 161.
[7]) Jahresber. f. gesammte Med. 1859/60.

aus verschiedenen Eiweissstoffen nicht identisch. Corvisart[1]) findet, dass, wenn auch alle Peptone das polarisirte Licht nach links ablenken, so doch der Ablenkungswinkel für Peptone verschiedenen Ursprungs verschieden ist. Die Angabe von Funke, als ob die Peptone leichter diffusibel seien als gewöhnliches Eiweiss, haben v. Wittich[2]) und Maly[3]) nicht bestätigen können. Im Gegentheil ist die Nichtdiffusibilität der Peptone für vegetabilische Membranen von Maly benutzt worden. um sie möglichst aschefrei darzustellen. Um die aus Eiweiss durch Magensaft entstehenden Peptone darzustellen, verfährt man daher am zweckmässigsten auf folgende Weise: 20 bis 30 g trockenes Fibrin werden nach dem Quellen in verdünnter HCl (0.1 bis 0.3 Proc.) mit Pepsin etwa zwei bis drei Tage lang digerirt, bis durch Neutralisation der sauren Flüssigkeit nur wenig Fibrin gefällt wird. Man neutralisirt mit Soda, kocht auf und filtrirt. Das Filtrat wird eingeengt und auf einen oder mehrere mit Pergamentpapier überspannte Dialysatoren gebracht. Die Aussenflüssigkeit wird drei- bis viermal im Tage gewechselt, bis kein Chlor mehr darin nachweisbar ist. Man kommt in zwei bis drei Tagen damit zu Stande. Die durch Diffusion verlorene Menge Pepton ist gering. Hatte sich im Inneren des Dialysators Trübung erzeugt, wie das namentlich in der wärmeren, hierfür nicht günstigen Jahreszeit geschieht, so wird filtrirt. Die klare, stark eingeengte Peptonlösung wird nun mit starkem Alkohol versetzt, so lange, bis ein Theil des Peptons sich in zusammenklebenden Flocken abgeschieden hat. Aus dem Filtrat resp. der davon abgegossenen Flüssigkeit kann durch wiederholten Zusatz von Alkohol noch mehr Pepton gefällt werden, sowie auch durch Eindampfen der alkoholischen Lösung. Die so bereiteten Peptone enthalten nur 0.4 bis 1.0 Proc. Asche. Die Aenderung. welche die Eiweisssubstanz erfährt, ergiebt sich aus folgender Zusammenstellung:

| | 1 | | 2 | | 3 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Eiweiss | Eiweiss-pepton | Eiweiss | Eiweisss-pepton | Fibrin | Fibrin-pepton |
| C . . . | 54.8 | 54.1 | 51.37 | 50.87 | 52.51 | 51.40 |
| H . . . | 7.1 | 7.0 | 7.13 | 7.03 | 0.98 | 6.95 |
| N . . . | 15.1 | 14.7 | 16.56 | 16.30 | 17.34 | 17.13 |
| O + S . | 23.0 | 24.2 | — | — | — | — |

1 Nach Mulder. 2 Nach Thiry[4]). 3 Nach Maly.

Den Schwefelgehalt der Peptone bestimmte Lehmann durchschnittlich 1.6 Proc., was mit dem des Fibrins oder Albumins übereinstimmt.

Von Metallsalzen werden die Magenpeptone nur durch Sublimat und basisch Bleiacetat gefällt, ebenso durch Tannin. Essigsaure Peptonlösung giebt mit gelb Blutlaugensalz eine schwache Trübung. Wie aus der procentischen Zusamme

[1]) Bull. soc. chim. 1862, p. 70.
[2]) Maly's Jahresber. 1872, S. 19.
[3]) Pflüger's Arch. 9, 563; Maly's Jahresber. 1875, S. 21; 1874, S. 27.
[4]) Zeitschr. rat. Med. [3] 14.

ung ersichtlich, erleidet das Eiweiss beim Uebergang in Magenpepton constant geringe Erniedrigung im Gehalt an Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff, aller Wahrscheinlichkeit nach auf einer Aufnahme von Wasser in das Molekül iht. Maly nimmt auf Grund seiner Untersuchungen an, dass das Magenpepton it ein Gemenge von Spaltungsproducten der eiweissartigen Muttersubstanz, lern im Wesentlichen einheitlicher Natur ist. Interessant ist die Beobachtung Maly (l. c.) und Plosz[1]), dass Thiere, mit Kohlehydraten, Fett, unorganischen :en und Magenpeptonen ernährt, also unter Ausschluss von Eiweisssubstanzen, eihen und wachsen können. Das Magenpepton ist demnach ein im Organismus Eiweiss reconstruirbares organisationsfähiges Verdauungsproduct. Ob dies auch die Peptone anderer Proteïnsubstanzen Gültigkeit hat, ist nicht untersucht den, wie überhaupt bis jetzt nur die Peptone des Eiereiweisses und des Fibrins enstand einer genaueren Untersuchung waren. Mucin und Elastin werden von thierischen Verdauungssäften nicht angegriffen. Von Glutin ist bekannt, dass Stickstoff desselben vom thierischen Organismus in Form von Harnstoff ausgeeden wird. Glutin kann aber nicht als Eiweissersatz dienen, und Hunde, ausiesslich mit Leim gefüttert, gehen nach einiger Zeit constant zu Grunde. Die etzung, welche die Proteïnstoffe schon durch den pankreatischen Saft erleiden, eine tiefer gehende, jedenfalls auf weiter fortschreitender Hydratation beruhende. der Einwirkung von Pankreas auf thierische und pflanzliche Eiweissstoffe enten auch die krystalloïden Producte, wie Leucin, Tyrosin, Glycocoll, Asparagin-Glutaminsäure. Die hier entstehenden Peptone haben auch wesentlich andere ımmensetzung als die Muttersubstanz. Namentlich ist der Kohlenstoffgehalt eutend erniedrigt, wie aus folgender Zusammenstellung ersichtlich:

| | 1<br>Aus Blutfibrin | 2<br>Aus Pflanzencaseïn | 3<br>Aus Leim | 4<br>Aus Osseïn |
|---|---|---|---|---|
| C . . . . . | 42.72 | 43.39 | 41.10 | 40.16 |
| H . . . . . | 7.13 | 7.04 | 6.81 | 7.32 |
| N . . . . . | 15.92 | 15.85 | 15.27 | 15.46 |
| S . . . . . | 1.03 | 1.03 | — | — |

1 und 2 nach Analysen von Kistiakowski[2]). 3 und 4 von Nencki ılysirt[3]).

2. Zersetzung der Proteïnsubstanzen durch Kochen mit Wasser, rch Säuren und Alkalien. Bei länger fortgesetztem Kochen von Eiweissffen mit Wasser an der Luft geht eine ansehnliche Menge davon in Lösung über, lem sie sich in einen in Wasser löslichen, in Alkohol dagegen unlöslichen Körper rwandeln. Zur Darstellung dieser Producte wird die nach längerem Kochen ıaltene Lösung eingedampft, der Rückstand mit Alkohol ausgezogen und nach n Auflösen in Wasser mit basisch-essigsaurem Blei gefällt. Der Niederschlag

[1]) Maly's Jahresber. 1874, S. 31.

[2]) Pflüger's Arch. 9, 438.

[3]) Ueber die Zersetzung d. Gelatine u. d. Eiweisses. Bern 1876, S. 10. Dieser Band S. 189.

wird nach dem Auswaschen mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die Lösung eingedampft. Man erhält so eine leimartige Masse, die auf Wasserzusatz erst zähe und klebrig wird, sich zuletzt löst und nach dem Trocknen zu einer spröden, leicht pulverisirbaren Masse wird. Die Lösung wird durch Mineralsäuren, durch Chlorgas, Bleioxyd-, Eisenoxyd-, Silberoxyd- und Zinkoxydsalze, sowie durch Sublimatlösung, ferner durch Gerbsäure gefällt, aber nicht durch Blutlaugensalz.

Mulder und v. Baumhauer[1]) nehmen an, dass Eiereiweiss und Fibrin hierbei Sauerstoff aufnehmen und in ein höheres Oxyd, das Proteïntrioxyd, übergehen. Nach Analysen Baumhauer's enthält der nach längerem Kochen von Fibrin mit Wasser erhaltene Körper C 50.7, H 6.6, N 15.1 Proc. Die Angaben verschiedener Chemiker bezüglich der Einwirkung sehr verdünnter Säuren auf Fibrin stimmen nicht überein. Bouchardat[2]) und v. Baumhauer[3]) geben übereinstimmend an, dass feuchtes Fibrin in Wasser, welches 0.0005 Salzsäure enthält, eingetaucht darin sogleich schwillt und sich in eine Masse sehr voluminöser Flocken verwandelt. Durch fortgesetzte Maceration löst sich der grösste Theil des Fibrins auf, aber es bleibt immer eine gewisse Menge einer Substanz übrig, die auch durch einen Ueberschuss des Lösungsmittels nicht angegriffen wird. Den aufgelösten Theil nennt Bouchardat Albuminose (Proteïnbioxyd von Mulder), den ungelöst zurückgebliebenen bezeichnet er als Epidermose, indem er sie als identisch mit der Substanz betrachtet, welche die Grundlage der Epidermis und der Hornsubstanzen bildet. Die Albuminose enthält nach Liebig[4]) allen Schwefel des Fibrins. v. Baumhauer fand in der aus der salzsauren Lösung durch kohlensaures Ammoniak gefällten Albuminose: C 52.9, H 6.9, N 15.9 Proc. Nach Verdeil[5]) enthält sie 1.6 Proc. Schwefel. Weizenkleber, Albumin des Blutes wie des Eiweisses und Caseïns geben nach Bouchardat mit verdünnter Salzsäure ebenfalls Albuminose. Lässt man sorgfältig ausgewaschenes Fibrin lange Zeit mit Wasser kochen, so entweicht mit den Wasserdämpfen Ammoniak; es geht dann ein Theil des Fibrins in Lösung. Der ungelöste Theil hatte die Zusammensetzung C 53.49, H 7.09, N 15.88, O + S 23.54 Proc. Der gelöste Theil, nach Verdunsten des Wassers mit Alkohol ausgezogen und bei 140° getrocknet, hatte im Mittel die Zusammensetzung: C 49.91, H 6.87, N 14.96, O + S 30.26 Proc. (Dumas u. Cahours[6]). Die letzte Substanz wird aus der wässerigen Lösung durch Tannin und Salpetersäure gefällt und scheint nach Dumas und Cahours kein einheitliches Product zu sein. Wird nach Mayer[7]) uncoagulirtes filtrirtes Eiweiss mit dem gleichen Volumen gewöhnlicher Salzsäure und 5 Vol. Wasser übergossen einige Stunden auf 80° erhitzt, so entsteht ein gelatinöser Niederschlag, während ein Theil in Lösung geht. Der Niederschlag löst sich in warmem Wasser auf, wird aber durch Zusatz von Salzsäure

[1]) Journ. prakt. Chem. **20**, 346: **31**, 295.
[2]) Compt. rend. **14**, 962.
[3]) Ann. Chem. Pharm. **47**, 320.
[4]) Ebenda **57**, 129.
[5]) Gerhard's organ. Chem. **4**, 497.
[6]) Ann. chim. phys. [3] **6**, 440.
[7]) Journ. prakt. Chem. **74**, 406.

wieder in gelatinösen Flocken gefällt. Beim Erkalten erstarrt die wässerige Lösung zu einer zitterigen Gallerte. Der mit Alkohol ausgewaschene Körper enthielt: 51.8 bis 52 Proc. C, 7.3 bis 7.6 Proc. H, 12.9 Proc. N und 1.4 Proc. S. In der von diesem Körper abfiltrirten Lösung findet sich nach Mayer ausser Ammoniak noch eine stickstoffhaltige schwefelfreie Säure, deren Magnesiasalz bei der Analyse 41.2 Proc. C, 6.1 Proc. H, 11.3 Proc. N und 11.8 Proc. Magnesia ergab. Wird nach Lubavin[1]) Albumin aus Ascitesflüssigkeit mit Wasser im Papin'schen Topfe 24 Stunden auf 120 bis 150° erhitzt, so löst es sich darin auf zu einer braunen, nach Bouillon riechenden Flüssigkeit, die Leucin und Tyrosin enthält. Als Caseïn mit Wasser in zugeschmolzenen Röhren auf 200° erhitzt wurde, zeigte sich beim Oeffnen ein starker Druck und Geruch nach Amylamin. Der Röhreninhalt bestand neben braungelber Flüssigkeit aus weissen krystallinischen Krusten und dunklem Harz. Die Krusten waren unreines Tyrosin, die Flüssigkeit enthielt Tyrosin und Leucin. Lässt man 1 Theil coagulirtes feuchtes Eiweiss entsprechend 1 kg trockenen Eiweisses, das mit sechs bis acht Liter Wasser und hierauf mit 200 g concentrirter Schwefelsäure versetzt worden, 1½ bis 2 Stunden sieden, so zertheilen sich die coagulirten Eiweissstücke zu einem weissen homogenen Brei, und etwa die Hälfte des Eiweisses geht in Lösung. Die ungelöste schwefelhaltige, von Schützenberger[2]) als Hemiproteïn bezeichnete Substanz enthält 52.6 bis 54.8 Proc. C, 7.0 bis 7.3 Proc. H und 14.2 bis 15.0 Proc. N. In der schwefelsauren Lösung findet sich dann eine albuminoïde amorphe Substanz, das Hemialbumin, von schwach saurer Reaction, annähernd 50 Proc. C, 7 Proc. H und 15.4 Proc. N enthaltend. Dem Gewichte nach bildet sie die Hauptmenge der aus der schwefelsauren Lösung isolirten Substanzen. Ausserdem findet sich in geringer Menge darin: 1. Eine durch basisches essigsaures Blei oder salpetersaures Quecksilber fällbare Säure, deren Zusammensetzung von Schützenberger annähernd durch die Formel: $C_{24}H_{40}N_6O_{15}$ ausgedrückt wird. 2. Eine stickstofffreie Substanz, die die Fehling'sche Lösung kräftig reducirt und Glucose zu sein scheint. 3. Ein dem Sarkin ähnlicher Körper.

Wird das Hemiproteïn längere Zeit mit verdünnter Schwefelsäure gekocht, so geht es nur langsam in Lösung über. Das hier entstehende Hauptproduct ist eine amorphe Substanz von schwach süssem Geschmack, farblos, löslich in Wasser und Alkohol. Sie enthält 46.0 bis 47.7 Proc. C, 6.7 bis 6.4 Proc. H und 14.0 bis 14.5 Proc. N. Sie wird von Schützenberger Hemiproteïdin genannt. Gleichzeitig mit dem Hemiproteïdin entstehen aus dem Hemiproteïn auch Tyrosin, Leucin und deren Homologe. Man ersieht aus dem Obigen, dass durch Einwirkung von sehr verdünnten Säuren aus dem Eiweiss zunächst Substanzen entstehen, welche den Magenpeptonen in ihrer Zusammensetzung und Verhalten sehr ähnlich sind. Bei fortgesetztem Kochen mit Wasser oder verdünnten Säuren, oder Erhitzen auf höhere Temperaturen entstehen immer mehr Producte mit geringerem Kohlenstoffgehalt, und je nach der Dauer und Stärke des Reagens treten auch die krystalloïden

[1]) Maly's Jahresber. 1871, S. 13.
[2]) Bull. soc. chim. 23, 161.

Producte auf; ähnlich wie bei der Einwirkung des pankreatischen Saftes, welche bezüglich ihrer Intensität der Einwirkung concentrirterer Säuren und Alkalien auf Eiweiss gleicht. Braconnot[1]) hat zuerst 1820 durch Kochen von Glutin mit Schwefelsäure, die mit dem gleichen Gewicht Wasser verdünnt worden, das Glycocoll und kurz darauf aus Muskelfleisch das Leucin dargestellt. Sodann erhielt Liebig[2]) bei der Wiederholung der Versuche Braconnot's noch das Tyrosin. Seither ist die Einwirkung concentrirterer Säuren auf die Proteïnsubstanzen vielfach untersucht worden. Die Zersetzung der pflanzlichen Eiweisskörper durch kochende Schwefelsäure hat namentlich Ritthausen[3]) studirt. Ein Theil des trockenen Proteïnkörpers wurde fein gepulvert in das noch heisse Gemisch von 3 Theilen concentrirter Schwefelsäure und 6 Theilen Wasser oder $2^1/_2$ Theilen concentrirter Schwefelsäure und 5 Theilen Wasser eingetragen und im Wasserbade erhitzt, bis die Substanz gelöst und die Lösung beim Kochen nicht mehr schäumend ist: diese alsdann sieben bis acht Stunden, indem das Kochgefäss mit dem Rückflusskühler verbunden wird, gekocht. Es entstehen dabei Tyrosin und Leucin aus den Proteïnstoffen der Samen, Glutamin- und Asparaginsäure nebst einer bedeutenden Menge stickstoffreicher nicht krystallisirbarer Körper.

Die Glutaminsäure $= C_5H_9NO_4$. Sie ist die normale Amidopyroweinsäure $= C_3H_5(NH_2)<^{CO_2H}_{CO_2H}$ und wurde zuerst von Ritthausen[4]) unter den Zersetzungsproducten des Klebers aufgefunden. Sie krystallisirt aus der Zersetzungsflüssigkeit nach Abscheidung des Tyrosins und Leucins, wenn diese noch ein wenig concentrirt und einige Tage kalt gestellt wird, als feines Krystallmehl oder auch in festen, am Boden des Gefässes festsitzenden Krusten aus. Durch Umkrystallisiren aus Wasser, wobei sie am besten nur durch Einstellen des Gefässes in heisses Wasser zu lösen ist, kann sie leicht rein erhalten werden. Von etwa noch beigemengtem Tyrosin wird sie durch Ueberführen in Baryt- oder Kalksalz (mittelst Kochen mit den kohlensauren Salzen von Baryt und Kalk) und Auskrystallisiren des Tyrosins aus der concentrirten Lösung getrennt. Kleber oder die einzelnen Kleberproteïnstoffe, Maisfibrin und Conglutin, liefern sie in reichlicher Menge. Aus Legumin entsteht sie nur in geringer Menge, sie krystallisirt nicht in der Zersetzungsflüssigkeit davon und muss daher mit der Asparaginsäure zusammen, in Baryt- oder Bleisalz verwandelt, gefällt und von dieser Säure durch Behandeln mit Weingeist und fractionirte Krystallisation getrennt werden. Hlasiwetz und Habermann[5]) fanden dann später, dass die Glutaminsäure aus thierischem Eiweiss (Caseïn und Albumin) ebenso leicht und zwar besonders aus Caseïn in sehr reichlicher Menge entsteht, wenn man die Zersetzung mit Salzsäure statt mit Schwefelsäure vornimmt und die Behandlung lange genug unterhält. Die Glutaminsäure tritt dann in Form einer Verbindung mit Salzsäure auf, aus welcher sie leicht durch Umsetzung mit Silber-

[1]) Ann. chim. phys. **13**, 114.
[2]) Ann. Chem. Pharm. **57**, 127.
[3]) Die Eiweisskörper. Bonn 1872, S. 213.
[4]) Journ. prakt. Chem. **99**, 1866; Die Eiweisskörper S. 215.
[5]) Anzeiger d. Wien. Akad. 1872, S. 114.

nd gewonnen werden kann. Auch durch Behandlung der thierischen und pflanzen Eiweisskörper mit Barythydrat wurde sie von Schützenberger erhalten. : Glutaminsäure ist zweibasisch und krystallisirt in völlig farblosen, diamantnzenden, rhombischen Krystallen, aus Legumin in rhombischen Tetraëdern. Sie t sich in 100 Theilen Wasser von 16° in 302 Theilen 32 proc. und in 1500 Theilen proc. Weingeist. In sehr unreinem Zustande ist sie in diesen Flüssigkeiten weit licher. In Alkohol und Aether ist sie unlöslich. Die Säure krystallisirt wasseri, schmilzt unter Zersetzung zwischen 135 und 140°, schmeckt und reagirt stark ıer. Die Lösung der Säure in Salpetersäure dreht die Polarisationsebene und sitzt ein specifisches Drehungsvermögen nach rechts von + 34.7°. Von den lzen ist besonders das Kupfersalz = $C_5H_7CuNO_4 + 2^1/_2H_2O$ charakteristisch, lches beim Kochen der Säurelösung mit überschüssigem Kupferoxydhydrat oder hlensaurem Kupfer entsteht. Es krystallisirt aus der tief blauen Lösung sehr gsam in schönen lasurblauen, glänzenden Prismen mit pyramidalen Endflächen. s der wässerigen Lösung durch Alkohol gefällt, enthält das Salz 3 Mol. $H_2O$ l ist dann in kochendem Wasser unlöslich. Die übrigen Salze der Glutaminsäure rden von Habermann[1]) dargestellt und analysirt. Sie sind meistens krystallinisch l in Wasser leicht löslich. Das neutrale Ammoniaksalz = $C_5H_7NO_4(NH_4)_2$, auernd bei 110 bis 115° getrocknet, geht in das saure Salz = $C_5H_8NO_4(NH_4)$ r. Auf 180 bis 190° erhitzt, verliert das letztere Salz 2 Mol. Wasser und liefert Glutimid = $C_5H_8N_2O_2$, eine schön krystallisirende, in 11 Theilen Wasser bei 18° iche Substanz. Auch der Glutaminsäure-Aethyläther = $C_3H_5(NH_2)<^{CO_2C_2H_5}_{CO_2H}$ weingeistiger Ammoniaklösung in verschlossenen Röhren bei 140 bis 150° erhitzt, ert kein Glutamin, sondern unter Austritt von Alkohol und Wasser wieder das ıtimid. Glutaminsäure, in verdünnter Salpetersäure gelöst, entwickelt beim Einen von salpetriger Säure reichliche Mengen Stickgas und geht in eine der Aepfelre homologe Säure, die Glutansäure = $C_5H_8O_5$, über. Die Glutansäure ist die male Oxypyroweinsäure (Markownikoff[2]) und mit der Itamalsäure und der ramalsäure isomer. Aus der wässerigen Lösung im Wasserbade möglichst concenrt, bildet sie eine syrupöse, erst nach langem Stehen über Schwefelsäure strahligystallinisch erstarrende Masse. Die wässerige Lösung dreht die Polarisationsebene ich links, das specifische Drehungsvermögen ist = — 9.15°. Das Blei- und Kalkılz sind in Wasser leicht löslich und krystallinisch. Durch Jodwasserstoff wird ilutansäure zu Desoxyglutansäure = $C_5H_8O_4$ reducirt (W. Ditmar[3]). Die esoxyglutansäure Ditmar's ist mit der von Markownikoff aus dem Trimethylenromür erhaltenen normalen Pyroweinsäure = $HO_2C—CH_2—CH_2—CH_2—CO_2H$ entisch.

Bei der Zersetzung des Eiweisses durch Barythydrat erhielt Schützenberger[4]) ıe in schönen, glänzenden, voluminösen Prismen krystallisirende Säure von der

[1]) Ann. Chem. Pharm. **179**, 248.
[2]) Deutsch. chem. Gesellsch. **9**, 1440. 1876.
[3]) Journ. prakt. Chem. **5**, 338.
[4]) Bull. soc. chim. **25**, 151.

Zusammensetzung $C_5H_7NO_3$, die sich daher nur durch ein Minus von $H_2O$ von der Glutaminsäure unterscheidet. Schützenberger nennt sie Glutiminsäure. Sie ist einbasisch, löslich in Wasser und heissem Alkohol und schmilzt gegen 180°. Ausser als Spaltungsproduct der Eiweisskörper wurde Glutaminsäure oder ein die Säure durch Kochen mit Salzsäure lieferndes Glutamin von Scheibler[1]) in der Rübenmelasse, von E. Schulze und Barbieri[2]) in den Kürbiskeimlingen, von Gorup-Besanez[3]) in den Wickenkeimlingen neben Leucin, Tyrosin und Asparaginsäure gefunden.

Die Zersetzungsproducte des Eiweisses beim Kochen mit verdünnter Kalilauge sind namentlich von Mulder[4]) untersucht worden. Die von ihm jedoch dabei erhaltenen und als Oxyproteïn, Trioxyproteïn, Erythroprotid, Protid u. s. w. beschriebenen Substanzen scheinen jedoch nur ein Gemenge nicht genügend charakterisirter Körper zu sein. Auch haben Liebig[5]) und seine Schüler, namentlich Laskowski[6]) und Fleitmann[7]) die Angaben Mulder's nicht bestätigt gefunden und die Ansichten Mulder's über die Constitution der Eiweisskörper, sowie seine Proteïntheorie als irrig erwiesen. Mit dem Namen Proteïn, von πρωτεῖος, bezeichnete Mulder den Niederschlag, welcher entsteht, wenn man Eiweisssubstanzen bei gewöhnlicher Temperatur in verdünnter Kalilösung auflöst und die Auflösung durch eine Säure sättigt. Mulder betrachtete dieses Proteïn als die Grundlage aller Eiweissstoffe. Auf ähnliche Weise bereitete dann später Lieberkühn sein Albumin (s. oben), dem er die Formel $C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22}$ beilegte.

Die Zersetzungsproducte der Eiweissstoffe durch Schmelzen mit Kalihydrat sind von Liebig[8]), Bopp[9]) und neuerdings von Kühne[10]), Engler und Janeke[11]) und mir[12]) untersucht worden.

Trägt man in schmelzendes Kalihydrat allmählich ein gleiches Gewicht Eiweissfibrin oder Caseïn ein, so findet zunächst unter Aufschäumen eine starke Entwickelung von Ammoniak statt, dem noch in geringer Menge sauerstofffreie organische Basen beigemischt sind, worauf bald auch Wasserstoff und flüchtige, nach Fäces riechende Substanzen auftreten. Bei fortgesetztem Erhitzen wird die anfangs dunkelbraun gefärbte Masse heller. Unterbricht man die Operation, sobald die Schmelze gelb geworden, und nimmt man sie mit Wasser auf, neutralisirt in der Wärme mit Essigsäure, filtrirt und lässt erkalten, so krystallisirt Tyrosin aus, und beim Eindampfen der Lauge scheidet sich Leucin mit etwas Tyrosin vermengt ab.

---

[1]) Deutsch. chem. Gesellsch. **1**, 206.
[2]) Ebenda **10**, 199.
[3]) Ebenda **10**, 780.
[4]) Journ. prakt. Chem. **16**, 129; **17**, 315; **18**, 121; **20**, 16; **31**, 190, 205.
[5]) Ann. Chem. Pharm. **57**, 132.
[6]) Ebenda **58**, 120.
[7]) Ebenda **31**, 131.
[8]) Ebenda **58**, 127.
[9]) Ebenda **69**, 30.
[10]) Deutsch. chem. Gesellsch. **8**, 206.
[11]) Ebenda **9**, 1411.
[12]) Noch nicht veröffentlichte Untersuchungen.

Die davon filtrirte Flüssigkeit bleibt beim Eindampfen als ein nicht krystallisirender Syrup (um so weniger, je länger das Schmelzen mit Kali fortgesetzt wurde) zurück. Er enthält noch die Ammoniaksalze der Essig-, Butter- und Valeriansäure, die durch Destillation mit verdünnter Schwefelsäure daraus isolirt werden können. Die Buttersäure findet sich nur bei starkem oder lange fortgesetztem Schmelzen. Als ich 50 g trockenen Eiweisses mit der 10 fachen Menge Kali im Oelbade erhitzte, begann die Masse, als die Temperatur des Bades auf 230 bis 250° stieg, unter starker Ammoniakentwickelung zu schmelzen. Bei fortgesetztem Erhitzen, wobei die Temperatur auf 280 bis 300° steigt, findet Wasserstoffentwickelung statt und es gehen flüchtige Producte, wie Skatol, Indol und fette Aminbasen, mit den Wasserdämpfen in geringer Menge über. Im Falle die Kalischmelze über freiem Feuer und stark erhitzt wurde, findet sich unter den flüchtigen Producten auch Pyrrol. Nach etwa sechsstündigem Erhitzen, wenn kein Wasser mehr überdestillirt, lässt man erkalten, befeuchtet die Schmelze mit 20 bis 30 ccm Wasser und erhitzt von Neuem. Nach fünf- bis sechsmaliger Wiederholung dieser Operation gehen keine flüchtigen Materien mehr über. Aus den vereinten Destillaten kann nach Uebersättigung mit Salzsäure durch Zusatz von Pikrinsäure das Skatol und Indol in Form der Pikrinsäureverbindung abgeschieden werden. Die Kalischmelze wurde hierauf mit Wasser gelöst, mit Schwefelsäure übersättigt und destillirt. Mit den Wasserdämpfen gehen in das Destillat über: Schwefel, von Schwefelkalium herrührend, Phenol und flüchtige Fettsäuren, vorwiegend Buttersäure (etwa 30 Proc. des angewandten Eiweisses). Das von Schwefel filtrirte und mit Kali neutralisirte Destillat giebt an Aether das Phenolkalium ab, während die flüchtigen Fettsäuren als Kalisalze in der wässerigen Lösung zurückbleiben. In dem Retortenrückstande finden sich neben Spuren durch Millon'sches Reagens nachweisbaren Eiweisses nur noch wenig fette Amidosäuren, hauptsächlich Leucin, kein Tyrosin. Man ersieht daraus, dass bei der Kalischmelze zunächst aus den Eiweissstoffen die gleichen Producte wie durch Kochen mit Säuren erhalten werden. Bei fortgesetztem Erhitzen findet unter Wasserstoffentwickelung die Oxydation der zuerst entstandenen Amidosäuren statt. Leucin z. B., mit Kali geschmolzen, zerfällt nach der Gleichung: $C_6H_{13}NO_2 + 3KOH = C_5H_9O_2K + CO_3K_2 + NH_3 + 2H_2$. Das Tyrosin geht zunächst in Paraoxybenzoësäure, sodann in Kohlensäure und Phenol über. Unaufgeklärt bleibt die Bildung der flüchtigen aromatischen Producte, wie das Skatol und Indol. Bemerkenswerth ist es, dass Proteïnsubstanzen, wie z. B. Glutin, die in ihrem Molekül kein Tyrosin enthalten, weder bei der Kalischmelze, noch bei der Fäulniss, in welchem letzteren Processe die gleichen Producte wie im ersten entstehen, kein Indol oder Skatol liefern.

Die Zersetzungsproducte der Eiweisssubstanzen beim Kochen mit Barythydrat wurden von Schützenberger[1]) untersucht. Wird Eiweiss mit einer Lösung von Barythydrat auch lange (über 120 Stunden) in offenen Gefässen gekocht, so ist die Spaltung des Albumins noch immer nicht vollständig. Man findet neben vorwiegend krystallinischen Producten auch unkrystallisirbare Stoffe, die, mit Baryt-

[1]) Bull. soc. chim. **23**, 43, 161, 193, 216, 242, 385; **24**, 2, 145.

hydrat in verschlossenen Gefässen auf 150⁰ erhitzt, noch weiter unter Entwickelung von Kohlensäure und Ammoniak und Bildung krystalloïder Producte sich zersetzen. Wird dagegen ein Theil Eiweissstoff mit drei Theilen krystallisirten Barythydrates und 3 bis 4 Theilen Wasser 4 bis 6 Tage lang in einem hermetisch verschlossenen Gefässe auf 160 bis 200⁰ erhitzt, so ist das Eiweissmolekül vollständig in krystallinische Spaltungsproducte übergeführt, und es treten keine syrupösen peptonartigen Materien mehr auf. Ausser Kohlensäure, Oxalsäure, Essigsäure und Ammoniak, sowie Leucin und Tyrosin erhielt Schützenberger mehrere, zum Theil durch andere Hydratationsagentien bis jetzt aus dem Eiweiss nicht erhaltene Spaltungsproducte. Es treten dabei auf: 1. Die Amidosäuren von der allgemeinen Formel $C_nH_{2n+1}NO_2$ (n = 7, 6, 5, 4, 3), d. h. die Amidoenanthsäure = $C_7H_{15}NO_2$, das Leucin, die Amidovaleriansäure, das Butalanin und das Alanin. 2. Die Asparaginsäure, Glutaminsäure und Glutiminsäure. Man erhält jedoch aus einem Kilogramm Eiweiss nur 1.5 bis 2.0 g der letzten Substanz. 3. In ziemlich grosser Menge krystallinische Producte von süssem Geschmack, von Schützenberger als Leuceïn und A- und B-Gluco-Proteïn bezeichnet, die sich von den Amidosäuren der Reihe $C_nH_{2n+1}NO_2$ durch einen Mindergehalt von Wasserstoff unterscheiden. Die letzteren Substanzen sollen nur Verbindungen von Leucin oder seiner Homologen mit wasserstoffärmeren Amidosäuren aus der Acrylsäurereihe sein. Die einzelnen Glieder jedoch aus dieser wasserstoffärmeren Amidosäurereihe sind nicht weiter untersucht worden. 4. Einen mit dem Namen Tyroleucin [1]) bezeichneten Körper von der Zusammensetzung: $C_{14}H_{22}N_2O_4$. Derselbe bildet sphärische, matt weisse Massen, löslich in Wasser (bei 16⁰ löst Wasser davon 5.3 Proc.), nur wenig in Alkohol. Bei Abschluss der Luft erhitzt, schmilzt er unter Zersetzung gegen 245 bis 250⁰; es entweichen Wasser und das Carbonat einer flüchtigen Base, es bildet sich ein weisses Sublimat und es hinterbleibt eine gelbe Masse, die beim Erkalten erstarrt. Die flüchtige Base liefert ein krystallisirtes Platindoppelsalz = $(C_8H_{11}N.HCl)_2 + PtCl_4$, sie besitzt also die Zusammensetzung des Collidins. Das weisse Sublimat besteht aus Amidovaleriansäure = $C_5H_{11}NO_2$, und der gelbe Rückstand hat die Zusammensetzung $C_{14}H_{18}N_2O_2$. Die Zersetzung des Tyroleucins wird durch folgende Gleichungen ausgedrückt: $C_{14}H_{22}N_2O_4 = 2H_2O + C_{14}H_{18}N_2O_2$ und $C_{14}H_{22}N_2O_4 = CO_2 + C_8H_{11}N + C_5H_{11}NO_2$. Endlich 5. in geringer Menge eine stickstofffreie Substanz, dem Dextrin ähnlich, die nicht weiter definirt wurde.

Glutin und Chondrin geben nach Schützenberger und Bourgeois [2]) Ammoniak, Kohlensäure und Oxalsäure, ähnlich wie Eiweiss in Mengen, die den bei Hydratation eines Gemenges von Harnstoff und Oxamid entsprechen. Das Amidosäurengemenge aus Glutin bestand aus Glycocoll — 20 bis 25 Proc. Alanin, Amidobuttersäure, Spuren Glutaminsäure und Glieder der Reihe $C_nH_{2n-1}NO_2$ mit n = 4, 5, 6, mehr als 50 Proc. Chondrin liefert eine dreifach grössere Menge Essigsäure als Glutin, in dem Amidosäuregemenge fand sich fast kein Glycocoll.

---

[1]) Compt. rend. 1877. 15. Janvier.

[2]) Ebenda **82**, 262.

dagegen Säuren der Reihe $C_nH_{2n-1}NO_4$, Alanin, Amidobuttersäure und Glieder der Acrylsäurereihe $C_4H_7NO_2$ und $C_5H_9NO_2$. Nach Schützenberger und Bourgeois ist Gelatine = $C_{76}H_{124}N_{24}O_{29}$, und Chondrin = $C_{99}H_{156}N_{24}O_{42}$.

3. Einwirkung der Salpetersäure auf Proteïnsubstanzen. Mit mässig verdünnter Salpetersäure digerirt, geben alle Eiweisskörper unter theilweiser Lösung einen in Wasser unlöslichen gelben Rückstand, welchen Mulder[1]) zuerst darstellte und analysirte und mit dem Namen Xanthoproteïnsäure bezeichnete. Dieser Körper ist orangegelb, nicht krystallinisch, von saurer Reaction, löslich in concentrirten Säuren und daraus durch Wasser abfällbar, in Alkohol und Aether unlöslich. Alkalien, Kalk und Barytwasser lösen ihn mit rothbrauner Farbe auf. Die meisten Metalllösungen fällen aus diesen Lösungen amorphe Verbindungen der Xanthoproteïnsäure mit dem angewandten Metall aus. Van der Pant[2]) bereitete die Xanthoproteïnsäure durch Digestion des getrockneten und fein gepulverten Eiweisskörpers mit einer Mischung von einem Theil gewöhnlicher Salpetersäure und zwei Theilen Wasser. Nach sechs bis sieben Tagen wurde der gelbe Rückstand mit viel Wasser ausgewaschen und bei 130 bis 140° getrocknet. Nach Analysen van der Pant's enthält die Xanthoproteïnsäure in 100 Theilen:

| | Aus Eiweiss | Aus Fibrin | Aus Caseïn | Aus Proteïn |
|---|---|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 50.2 | 49.2 | 50.6 | 50.8 |
| H . . . . . . . . . | 6.4 | 6.2 | 6.3 | 6.6 |
| N . . . . . . . . . | 14.8 | 14.8 | 14.4 | 14.8 |
| O . . . . . . . . . | 27.4 | 28.5 | 27.6 | 26.3 |
| S . . . . . . . . . | 1.1 | 0.9 | 0.9 | 1.5 |
| Asche . . . . . . . | 0.1 | 0.4 | 0.2 | — |

Allem Anschein nach ist die Xanthoproteïnsäure aus verschiedenen Eiweisskörpern nicht identisch und ist ohne Zweifel eine Nitroverbindung.

Wird fein zerriebenes Albumin in kleinen Portionen unter Umschütteln nach und nach in ein kaltes Gemisch von ein Volum rauchender Salpetersäure und drei Volumen concentrirter Schwefelsäure eingetragen, so löst es sich allmählich zu einer wasserklaren Flüssigkeit auf, ohne Entwickelung rother Dämpfe (Löw[3]). Nach zehn Stunden wurde die Flüssigkeit mit dem 15 fachen Volumen Wasser verdünnt, und der ausgeschiedene flockige Körper, etwa $^2/_3$ von dem Gewichte des angewandten Albumens betragend, filtrirt, gewaschen und getrocknet, ergab bei der Analyse mit der Formel: $C_{72}H_{102}S_2N_{24}O_{37}$ übereinstimmende Zahlen (gef. C 44.26 bis 44.01, H 5.57 bis 5.58, S 2.92 bis 3.03, N 17.20 bis 17.00 Proc.; ber. C 44.13, H 5.41, S 3.27, N 17.16 und 30.25 Proc. O). Unter der Annahme der Lieberkühn'schen Albuminformel = $C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22}$ wäre demnach dieser Körper eine Hexanitroalbuminsulfonsäure = $C_{72}H_{105}(NO_2)_6(SO_3H)N_{18}SO_{22}$. Dieser Körper ist ein

[1]) Journ. prakt. Chem. **16**, 397; **20**, 352.
[2]) Pharm. Centralbl. 1848, S. 342.
[3]) Journ. prakt. Chem. (N. F.) **3**, 180. 1871.

gelbes Pulver von schwach bitterem Geschmack, unlöslich in Wasser, Alkohol und verdünnten Säuren, löslich in verdünnten Alkalien mit rother Farbe und daraus unverändert fällbar. Durch Schwefelammonium wird er zu Hexamidoalbuminsulfonsäure = $C_{72}H_{105}(NH_2)_6(SO_3H)N_{18}SO_{22}$ reducirt (gef. C 48.12, H 6.87, N 19.02, S 3.92 Proc.; ber. C 48.48, H 6.62, N 18.85, S 3.6, O 22.45 Proc.). Auch eine Albuminsulfonsäure hat Löw durch Verreiben von 20 g fein gepulverten Eiweisses mit 300 g concentrirter Schwefelsäure dargestellt. Die Analyse ergab: C 50.61, H 6.77, S 3.5, was annähernd mit der Formel $C_{72}H_{111}(SO_3H)N_{18}SO_{22}$ übereinstimmt.

Nach Berzelius[1]) soll Leim mit Salpetersäure oxydirt ausser Oxalsäure noch Zuckersäure liefern.

4. Die Oxydationsproducte der Proteïnsubstanzen. Durch Oxydationsmischungen werden die Eiweisskörper (Braunstein oder Kaliumbichromat und Schwefelsäure) leicht angegriffen. Die hier entstehenden Producte wurden vorzugsweise von Guckelberger[2]) untersucht. Wird ein Theil trockener Eiweisssubstanz mit $3^1/_2$ Theilen concentrirter Schwefelsäure, 30 Theilen Wasser und 3 Theilen Braunstein in einer geräumigen Retorte erhitzt, so findet lebhaftes Aufbrausen statt, und bei guter Kühlung gehen in die Vorlage Ameisen-, Essig-, Propion-, Butter-, Baldrian-, Capron- und Benzoësäure über. Ferner Essig-, Propion-, Butter- und Benzoylaldehyd. Albumin, Fibrin und Caseïn liefern bei dieser Behandlung qualitativ die nämlichen Producte, quantitativ dagegen giebt Caseïn am wenigsten Aldehyd und Essigsäure, mehr schon Albumin und Fibrin, am meisten aber Leim. Caseïn giebt wieder das meiste Bittermandelöl, weniger geben Albumin und Fibrin. Das Fibrin unterscheidet sich von den übrigen durch die reichliche Ausbeute an Buttersäure und deren Aldehyd. Der Rückstand in der Retorte enthält neben bedeutenden Mengen von schwefelsaurem Ammoniak in geringen Mengen flüchtige organische Basen. Keller[3]) erhielt bei der Oxydation von Weizenkleber mit Braunstein und Schwefelsäure im Wesentlichen dieselben Resultate, mit der Ausnahme, dass er kein Butter-, sondern vorwiegend Valeraldehyd erhielt. Guckelberger (l. c.) untersuchte auch die Zersetzungsproducte der Eiweisskörper durch eine Mischung von chromsaurem Kalium und Schwefelsäure. (Ein Gewichtstheil des Eiweisskörpers wurde mit zwei Theilen Kaliumbichromat, $3^1/_2$ Theilen concentrirter Schwefelsäure und 30 Theilen Wasser destillirt.) Das Destillat besitzt in diesem Falle einen betäubenden Geruch nach Blausäure, und es findet sich darin ausser Propionaldehyd (oder -Aceton), Valeronitril und wenig Bittermandelöl noch Blausäure, wenig Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Benzoësäure und Spuren von Capronsäure, ferner ein schweres, nach Zimmtöl riechendes Oel. Schlieper[4]) erhielt bei der Oxydation des Leims vermittelst Chromsäure: Essig-, Valerian- und Benzoësäure, ferner Blausäure, Valeronitril, Valeracetonitril und ein

---

[1]) Lehrb. d. Chem. 3. Aufl. **9**, 800.

[2]) Ann. Chem. Pharm. **64**, 39.

[3]) Ann. Chem. Pharm. **72**, 24.

[4]) Ann. Chem. Pharm. **59**, 23.

mmt riechendes schweres Oel, welches aber nicht weiter untersucht wurde. e[1]) hat ausserdem bei der Oxydation von Eiweissstoffen oder Leim mit äure eine bis jetzt nicht weiter untersuchte Säure von der Zusammensetzung „ die Collinsäure (s. d. Art.), erhalten. Nach Hlasiwetz und Habermann[2]) Collinsäure Fröhde's nur unreine Benzoësäure. Die durch Oxydation der stoffe auftretenden Producte sind daher verhältnissmässig einfach zusammen- und wie Liebig[3]) zeigte, entstehen sie erst secundär aus den aus Eiweiss Hydratation zuerst gebildeten Substanzen. Glycocoll, mit Braunstein und ter Schwefelsäure erhitzt, zerfällt unter Aufnahme von Sauerstoff in Kohlen- Blausäure und Wasser; mit dem gleichen Reagens behandelt, zerfällt das in Kohlensäure, Valeronitril und Wasser; bei Anwendung von stärkerer elsäure geht Valeriansäure über, während der Rückstand schwefelsaures iak enthält.

e Einwirkung von Chlor auf Eiweisskörper wurde zuerst von Mulder[4]) cht. Leitet man Chlorgas in die Lösung der Eiweisskörper, so entsteht ser, flockiger, chlorhaltiger Niederschlag, der anfangs schwefelhaltig, bei fort- r Behandlung mit Chlorgas schwefelfrei wird. Die hierbei entstehenden tigen Substanzen scheinen jedoch Gemenge mehrerer Producte zu sein. n Mittheilungen Mulder's ist jedenfalls ersichtlich, dass bei dieser Reaction tige Substitutionsproducte entstehen. Die Einwirkung einer Mischung von säure und Salzsäure auf die Eiweisskörper ist von Mühlhäuser[5]) studirt

Wenn man Albumin in eine Mischung von zwei Theilen rauchender säure und ein Theil concentrirter Salzsäure bringt, so findet heftige Ein- g statt, und man erhält eine gelbe, wachsartig zähe, leicht in Weingeist, nicht er lösliche Materie, etwa $^1/_3$ von dem Gewicht des angewandten Albumens d. Diese Substanz, allem Anschein nach eine Nitroverbindung, enthält chwefel, aber kein Chlor. Chlornitroproducte erhielt Mühlhäuser, als er körper in rauchender Salpetersäure, nöthigenfalls unter Zusatz von Wasser, ie filtrirte Lösung noch heiss mit der Hälfte ihres Volumens concentrirter e versetzte und bei allmählich gesteigerter Wärme destillirte. Mit den sauren n geht hierbei ein sehr flüchtiger öliger Körper über, den Mühlhäuser als zol bezeichnet und dem er auf Grund nicht genau stimmender Analysen die $C_2H_2Cl_3(NO_2)$ beilegt. Das Chlorazol wäre demnach eine dem Chlorpikrin ge Verbindung. Das Chlorazol ist ein schweres Oel, specif. Gewicht 1.555, serst heftigem Geruch und stark saurer Reaction, in Wasser wenig löslich, n Alkohol. Es lässt sich mit Wasserdämpfen unzersetzt destilliren, aber r sich. Bei dem Erhitzen des Oeles für sich zersetzt es sich schon bei 104° Entwickelung rother Dämpfe. Später destillirt ein dem ursprünglichen s Oel über, das bei 140° siedet und ein specifisches Gewicht von 1.628 hat.

---

Journ. prakt. Chem. **80**, 344.
Ann. Chem. Pharm. **159**, 309.
Ebenda **70**, 310.
Journ. prakt. Chem. **20**, 340.
Ann. Chem. Pharm. **90**, 171. 1854 u. 1857.

Auf höhere Temperaturen erhitzt, verpufft das Chlorazol mit Heftigkeit. Von den nicht flüchtigen Producten isolirte Mühlhäuser ausser Oxalsäure und Fumarsäure einen in Wasser nur wenig, leicht dagegen in Alkohol und Aether löslichen, flüssigen Körper, der ursprünglich wasserhell, an der Luft röthlich wird, sauer reagirt und einen angenehmen bittermandelartigen Geruch und bitteren Geschmack besitzt. Sein specif. Gewicht ist 1.360. Die Elementaranalysen dieses Productes ergaben nach Mühlhäuser 40.0 bis 43.6 Proc. C, 3.3 bis 5.3 Proc. H, 34.4 bis 29.2 Proc. Cl und 4.2 Proc. N. Wurde diese Substanz abermaliger Destillation mit rauchender Salpetersäure unterworfen, so geht mit den Wasserdämpfen von Neuem Chlorazol über und in der Retorte finden sich krystallinische Producte, die ihren Eigenschaften und Analysen Mühlhäuser's zufolge mit grosser Wahrscheinlichkeit Bichlorparaoxybenzoësäure und Bichlornitrophenol sind. Der Schwefel der Eiweisskörper wird bei dieser Oxydation mit Königswasser zu Schwefelsäure oxydirt, auch ist wohl der ganze Stickstoff als solcher ausgeschieden worden, da alle von Mühlhäuser erhaltenen Körper Nitroproducte sind.

Die Einwirkung von Brom auf Proteïnstoffe wurde von Hlasiwetz und Habermann [1]) studirt. Die sorgfältige Untersuchung der dabei auftretenden Spaltungsproducte gab ausser Ammoniak und humöser Substanz:

| | Eieralbumin | Pflanzenalbumin | Caseïn | Legumin |
|---|---|---|---|---|
| Bromoform | 29.9 | 39.1 | 37.0 | 44.9 |
| Bromessigsäure | 22.0 | 16.9 | 21.1 | 26.2 |
| Oxalsäure | 12.0 | 18.5 | 11.2 | 12.5 |
| Asparaginsäure [2]) | 23.8 | 23.1 | 0.3 | 14.5 |
| Leucin (rohes) | 22.6 | 17.3 | 10.1 | 17.0 |
| Bromanil | 1.5 | 1.4 | 0.3 | 1.4 |

Man ersieht, dass bei der Einwirkung von Chlor oder Brom auf die Eiweisskörper Substanzen erhalten werden, die man als Substitutions- oder Oxydationsproducte der durch Hydratation der Eiweisskörper, wie Leucin, Tyrosin u. s. w. entstandenen aufzufassen hat. Unterbricht man die Einwirkung, noch bevor die Absorption von Chlor oder Brom aufgehört hat, so erhält man intermediäre Producte, wie die Chlorderivate Mulder's, oder die nicht flüchtige ölige Substanz Mühlhäuser's. Der gleiche Fall ist auch bei nicht vollkommener Bromirung der Proteïnsubstanzen. Ein solches intermediäres Product ist die von Knopp [3]) erhaltene Bromdioxyleucin-Ammon-Bromtyrosinsäure, deren Zinksalz die Zusammensetzung $C_{15}H_{27}Br_2N_3Zn_2O_{10}$ hat. Die Säure, mit Ammoniak oder Barytwasser bis zum Kochen erhitzt, zerfällt in die Derivate des Leucins und Tyrosins.

Die Einwirkung von Ozon auf Eiweisskörper untersuchte Gorup-Besanez [4]).

[1]) Ann. Chem. Pharm. **159**, 304.

[2]) Und eine als Malaminsäure angenommene Säure.

[3]) Chem. Centralbl. 1875, S. 305.

[4]) Ann. Chem. Pharm. **110**, 96.

Wohl charakterisirte Körper wurden nicht erhalten. Aus Casein, das etwas schwieriger zerstört wird, wurden ebenfalls keine krystalloïden Producte erhalten. Fibrin und Knochenleim werden von ozonisirter Luft nicht angegriffen. Wird in eine filtrirte klare Lösung von Hühnereiweiss stark ozonisirte Luft geleitet, so gerinnt das Eiweiss anfänglich, später löst es sich wieder auf. Die nach beendigter Einwirkung klar filtrirte, schwach sauer reagirende Flüssigkeit bleibt beim Kochen vollständig klar und wird weder durch Mineralsäuren noch durch Metallsalze, basisch essigsaures Blei ausgenommen, gefällt. Auf dem Wasserbade verdunstet, hinterlässt sie einen geringen peptonartigen Rückstand, der zum Theil in Alkohol löslich, zum Theil unlöslich ist.

5. Verhalten gegen Reductionsmittel. Die Einwirkung nascirenden Wasserstoffs auf Eiweiss wurde von Berthelot[1]) untersucht. Ein Theil trockenes Eiweiss wurde mit 80 Theilen concentrirter Jodwasserstoffsäure auf 275° erhitzt. Es entstehen dabei Ammoniak, Schwefelwasserstoff, viel Wasserstoff, etwas Kohle und ein Gemenge flüssiger Kohlenwasserstoffe, die, der Destillation unterworfen, bei 70° zu sieden beginnen; die letzten Antheile jedoch gehen erst bei sehr hohen Temperaturen über.

6. Zersetzung durch trockene Destillation. Beim trockenen Erhitzen schmelzen die Eiweisskörper unter Zersetzung. Man beobachtet zuerst Austritt von Wasser, sodann entstehen unter Aufblähung bräunliche Substanzen, es entweichen Gase und es destillirt eine ölige, eigenthümlich riechende Flüssigkeit, als Dippelsches Oel oder Thieröl bezeichnet. Anderson[2]) untersuchte dieses Oel, welches als Nebenproduct bei der Fabrikation der Thierkohle erhalten wird, und fand, dass bei der Rectification desselben zunächst Wasser mit Schwefelwasserstoff, hierauf Kohlensäure, Blausäure, Ammoniak und andere flüchtige Basen übergehen. Sodann erhielt er ein Oel, das zum geringeren Theil in Salzsäure löslich war und aus substituirten Ammoniaken, wie Methylamin, Aethylamin, Trimethylamin, Propylamin, Butylamin, Anilin und deren Homologen bestand. Ferner Basen der Picolinreihe: Picolin, Lutidin, Pyridin, Collidin, Substanzen, die von Baeyer zum grössten Theil auch synthetisch durch Einwirkung von Ammoniak auf die entsprechenden Aldehyde oder gebromten Derivate der Fettsäurereihe erhalten wurden. Der in Salzsäure unlösliche Antheil enthielt Benzol, Phenol und andere sauerstoff- oder stickstoffhaltige unkrystallisirbare Körper.

7. Zersetzung der Proteïnstoffe durch Fäulniss. Aehnlich wie die Kohlehydrate durch den Lebensprocess einzelliger Organismen je nach der Natur derselben in Alkohol und Kohlensäure, Milchsäure, Mannit, Buttersäure u. s. w. umgewandelt werden, werden auch die Proteïnsubstanzen durch den Lebensprocess solcher einzelliger Organismen (sogenannter geformter Fermente) zersetzt. Diese Art der Zersetzung wird mit dem Namen Fäulniss bezeichnet. Um die Fäulniss einzuleiten, werden am zweckmässigsten Proteïnsubstanzen mit dem 10- bis 20fachen Gewichte Wasser übergossen und mit einem Stück von 5 bis 10 g Gewicht eines

[1]) Bull. soc. chim. **9**, 1001. 1868.

[2]) Phil. Mag. **33**, 74; Edinburgh, Philosoph. Transact. **20**, 2ième partie.

thierischen Gewebes, z. B. Muskel, Drüsenstück, am besten mit Pankreas versetzt und bei etwa 40⁰ mehrere Tage digerirt. Nach den Untersuchungen von Béchamp[1], Tiegel[2]) und Nencki[3]) sind die Keime der Fäulnissfermente in den lebendigen Geweben des Thierkörpers enthalten, und der hauptsächlichste Sitz derselben scheint die pankreatische Drüse zu sein. Auch bei gewöhnlicher Temperatur bei Gegenwart von Wasser an der Luft gehen die Proteïnsubstanzen in Fäulniss über, indem die Keime der Fäulnissorganismen überall in der Atmosphäre vorhanden sind. Die specifischen Fäulnissfermente werden von F. Cohn[4]) in Coccobacterien, Mikrobacterien und Desmobacterien (*Bacillus subtilis*) eingetheilt. Doch ist die Kenntniss der Entwickelungsformen dieser einzelligen Organismen sehr unvollkommen und die Classification eine unsichere, was hauptsächlich ihrer ausserordentlichen Kleinheit und deshalb erschwerten Untersuchung zuzuschreiben ist.

Die bei der Fäulniss aus den Proteïnsubstanzen gebildeten Producte sind namentlich von Iljenko[5]), Bopp[6]), Nencki[7]) und Jeanneret[8]) untersucht worden. Nach Nencki ändern sich die Zersetzungsproducte je nach der Dauer der Fäulniss. Digerirt man Proteïnsubstanzen mit etwa dem 10- bis 20fachen Gewichte Wasser bei etwa 40⁰ (welche Temperatur die günstigste für die rasche Entwickelung der Fäulniss ist), so treten im Beginn derselben zunächst Producte auf, die man aus den Proteïnsubstanzen durch Hydratation, also Kochen mit concentrirteren Säuren und Alkalien erhält. Die Proteïnsubstanz geht in Lösung und es entstehen neben Peptonen krystalloïde Producte: wie Leucin und Tyrosin aus Eiweiss — Glycocoll aus Leim. Es ist aber ein charakteristisches Merkmal der Fäulniss, dass nie auf einmal die ganze Menge der Proteïnsubstanz gelöst resp. zersetzt wird, sondern noch viel davon unverändert ist, während die Zersetzung der zuerst durch Hydratation entstandenen Producte weiter fortschreitet. Man beobachtet daher sehr bald das Auftreten von Ammoniak, Kohlensäure und flüchtigen Fettsäuren — Capron-, Valerian-, Butter- und Essigsäure. Die Valeriansäure entsteht nachgewiesenermaassen bei der Fäulniss aus dem Leucin. Fast zu gleicher Zeit mit der Bildung flüchtiger Fettsäuren findet Gasentwickelung statt. Die entweichenden Gase bestehen aus Kohlensäure, Schwefelwasserstoff, Wasserstoff und Grubengas. Die Flüssigkeit nimmt einen stinkenden Geruch an, welcher durch die Bildung des Indols aus Eiweiss verursacht wird. Bei fortschreitender Fäulniss schwindet das Tyrosin und statt dessen tritt Phenol auf (Baumann[9]).

In dem Maasse, als die Eiweisssubstanz zersetzt wird, vermehrt sich die Me

[1]) Des Microzymas etc. par J. Béchamp. Montpellier et Paris 1875.

[2]) Virchow's Archiv **60**, 453.

[3]) Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pank Bern 1876, S. 35. — Dieser Band S. 209.

[4]) Beiträge z. Biologie der Pflanzen **1**, **2**. 1875.

[5]) Ann. Chem. Pharm. **63**, 264.

[6]) Ann. Chem. Pharm. **69**, 30.

[7]) Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pank Bern 1876. — Dieser Band S. 181.

[8]) Journ. prakt. Chem. **15**, 353. — Dieser Band S. 246.

[9]) Deutsch. chem. Gesellsch. **10**, 685. 1877.

des fettsauren und des kohlensauren Ammoniaks. Das letztere verflüchtigt allmählich, während die flüchtige Fettsäure, an Ammoniak gebunden, in der faulen Flüssigkeit bleibt. So ergaben z. B. nach 14 tägiger Fäulniss bei 40° 100 g trock Eiweisssubstanz folgende Spaltungsproducte: 8.94 Proc. $NH_3$, 3.06 Proc. 44.06 Proc. Buttersäure, 3.24 Proc. Leucin, 0.57 Proc. isomeres Leucin, 13.00 peptonartiger Rückstand. Ausser Indol tritt bei der Fäulniss des Eiweisses eine andere flüchtige widerwärtig riechende Substanz auf, die zuerst Secret nach achtmonatlicher Fäulniss unter Wasser erhielt. Sie ist später von Brieg aus den menschlichen Excrementen isolirt worden und mit dem Namen Sk bezeichnet. Sie krystallisirt in glänzenden zackigen Blättchen, die bei schmelzen und jedenfalls eine aromatische, dem Indol homologe Substanz ist. giebt bei der Fäulniss kein Tyrosin und kein Indol, dagegen in reichlicher M Glycocoll. Die flüchtige Fettsäure ist hier hauptsächlich Essigsäure. Beispielsw ergaben 100 Theile Gelatine nach viertägiger Fäulniss folgende Zersetzungsprod in Procenten: 9.48 Ammoniak, 24.2 flüchtige Fettsäuren, 12.2 Glycocoll, Peptone, 6.45 $CO_2$. Von den sämmtlichen thierischen Proteïnsubstanzen wider das Elastin der Fäulniss am längsten, doch wurden 100 g Elastin nach zweiwöch licher Fäulniss mit 5 g Ochsenpankreas bei 40° vollständig gelöst. Elastin li bei der Fäulniss weder Indol noch Phenol und verhält sich daher der Gelatine gl Nach Jeanneret's Untersuchungen gehen die Proteïnsubstanzen auch bei kommenem Luftabschluss in Fäulniss über, doch verläuft dann der Process langsamer. Die Fäulniss bewirkenden Organismen sind daher Anaërobien. dem Mitgetheilten ist ersichtlich, dass bei der Fäulniss der Eiweisskörper die glei Producte entstehen, wie bei ihrer Zersetzung durch Schmelzen mit Kali bei 250° und es ist daher sehr wahrscheinlich, dass der chemische Modus des Zer in beiden Processen der gleiche ist. Die vielfachen unter verschiedenen Bedingu angestellten Fäulnissversuche haben keine anderen als die obigen Spaltungsprod geliefert. Die verschiedenen älteren Angaben, dass Eiweiss unter gewissen Umstä zu Fett metamorphosirt wird, beruhen grösstentheils auf falschen Beobachtun So zeigte W. v. Schneider[3]), dass die Wachsproduction der Bienen, die nur Zucker und Pollen (Bienenbrot) ernährt wurden, jedenfalls nicht aus dem Ei des Pollens geschieht, denn die darin enthaltene geringe Eiweissmenge reicht nicht hin, um aus derselben die Menge des gebildeten Wachses abzuleiten. Annahme von Berlepsch, dass die Bienen aus Eiweiss Wachs produciren, daher falsch. Die Angabe von Blondeau[4]), das frischer Roqueforter Käse, eingekellert, Eiweiss verliert und in gleichem Maasse an Fett zunimmt, dass also Caseïn des Käses zu Fett wird, beruht entschieden auf einer falschen Ana Blondeau giebt an, dass der frische Roqueforter Käse 85.4 Proc. Caseïn und 1.85 Proc. Fett enthalte. Nach Verbleib von zwei Monat im dortigen K

[1]) Arch. des sciences de la bibliothèque universelle. Genève 1876. — Dieser Band S.

[2]) Deutsch. chem. Gesellsch. **10**, 1020. — Dieser Band S. 241.

[3]) Ann. Chem. Pharm. **162**, 235.

[4]) Ann. chim. phys. [4] **1**, 208.

enthielt der Käse 43.28 Proc. Caseïn und 32.3 Proc. Fett. Allein schon Brassier[1]) zeigte kurz darauf, dass der frische Käse über 20 Proc. Fett enthält. Aehnliche Zahlen erhielt Nadina Sieber[2]) bei der Fettbestimmung frischen, noch nicht eingekellerten Roqueforter Käses. Blondeau ist jedenfalls zu der Hypothese, dass Caseïn des Käses zu Fett umgewandelt worden, dadurch verleitet worden, dass er den Fettgehalt des frischen Käses zu niedrig bestimmte. Nach den Analysen von Nadina Sieber enthielt alter Roqueforter Käse: 40 Proc. Fett, 1.36 Proc. Buttersäure, 1.48 Ammoniak und 8.53 Proc. Caseïn (als solches bestimmt). Daneben Tyrosin, Leucin und peptonartige Materien. Die mikroskopische Untersuchung dieses Käses zeigte in überwiegender Menge die charakteristischen Formen des Schimmelpilzes, mit welchem allem Anschein nach der frische Käse gleich bei der Zubereitung versetzt wird. Daneben die oben genannten Fäulnissfermente (Mikrococcen und Mikrobacterien). Man ersieht daraus, dass beim Altwerden des Käses das Caseïn durch langsam fortschreitende Fäulniss allmählich zersetzt wird, die daraus entstehenden Producte aber keine anderen sind, als die oben beschriebenen. Durch die Umwandlung des Caseïns in flüchtige Producte: wie Ammoniak, Kohlensäure und flüchtige Fettsäuren, sowie Vertrocknung wird der procentische Gehalt des Käses an Fett ein wenig erhöht. Sicher ist jedoch diese Erhöhung nicht so zu deuten, als ob das Caseïn zu gewöhnlichem Fett umgewandelt werde. Aehnlich verhält es sich mit der Angabe, dass bei längerem Liegen von thierischen Theilen in der Erde oder in fliessendem Wasser das Eiweiss derselben sich in Fett verwandelt — die sogenannte Leichenfettbildung. Nach Secretan's Untersuchungen[3]) verwandelt sich vollkommen entfettetes Eiweiss unter keinen Umständen in Fett und liefert nur die oben bei der Fäulniss der Proteïnsubstanzen beschriebenen Producte. Nach meinen Beobachtungen widersteht das Fett von den thierischen Geweben am längsten der Fäulniss. Während der Muskel ganz in lösliche Producte umgewandelt wird, bleibt das Fett, namentlich in kalkreichem Boden oder Wasser, wo das Fett zum Theil in Kalkseifen verwandelt wird, als eine voluminöse, consistente Masse um die Knochen herum, einer lockeren Gypshülle vergleichbar. Bei oberflächlicher Betrachtung solcher Leichentheile, namentlich Kinderleichen mit fettreichem Unterhautzellgewebe, hat es allerdings den Anschein, als ob um die Knochen herum statt Muskel Fett aufgelagert wäre. Es ist möglich und auch wahrscheinlich, dass im lebendigen Thierkörper unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen Eiweisssubstanzen zur Fettbildung verwendet werden. Entscheidende Beweise jedoch liegen hierfür nicht vor.

[1]) Ann. chim. phys. [4] **5**, 270.
[2]) Noch nicht veröffentlichte Untersuchungen.
[3]) Arch. des sciences de la bibliothèque universelle. Genève 1876. — Dieser Band S. 216.

# 1878

## Bemerkung über die Carbaminsulfoessigsäure (Carbaminsulfoglycolsäure)

von

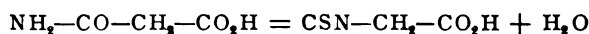
**M. Nencki.**

Journ. prakt. Chem. 17, 60.

In dem 13. Hefte, Jahrgang 1877 der Berliner chemischen Berichte hat Herr Claesson seine Untersuchungen über die Einwirkung von Rhodankalium auf Verbindungen der Monochloressigsäure publicirt. Ein Blick auf die von ihm beschriebenen Eigenschaften seiner Carbaminthioglycolsäure genügt, um zu erkennen, dass sie mit der von mir auf anderem Wege erhaltenen und vor Kurzem in diesem Journal beschriebenen Carbaminsulfoessigsäure identisch ist. Die beiderseitigen Angaben über ihre Krystallform, Verhalten gegen Silber- und Bleilösungen, stimmen überein; auch legen wir ihr beide die gleiche Structurformel bei. Herr Claesson hat ausserdem einige Salze und Aether der Säure dargestellt und analysirt. Nur in Bezug auf ihr Verhalten beim trockenen Erhitzen weichen unsere Angaben aus einander. Ich habe gesehen, dass, wenn grössere Portionen der Carbaminsulfoessigsäure vorsichtig bis zum Schmelzen erhitzt werden, sie sich unter heftiger Gasentwickelung zersetzt. Die entweichenden, zum Husten reizenden Dämpfe habe ich als Cyansäure erkannt. Herr Claesson sagt nur, dass die Säure, trocken erhitzt, unter Gasentwickelung schmilzt. Offenbar ist die Bildung der Cyansäure von ihm dabei nicht berücksichtigt worden.

Um sicher Cyansäure nachzuweisen, habe ich 3 g der Carbaminsulfoessigsäure in einem Kölbchen vorsichtig zum Schmelzen erhitzt und die entweichenden Dämpfe in Ammoniak aufgefangen. Die ammoniakalische Lösung, auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet, hinterliess einen Rückstand, der, mit absolutem Alkohol aufgenommen und filtrirt, nach dem Verdunsten des Alkohols sich als Harnstoff erwies. Der in langen rhombischen Säulen auskrystallisirte Körper hatte kühlen, bitteren

Geschmack und war in Wasser zerfliesslich. Trocken erhitzt schmolz er unter Ammoniakentwickelung. Ein Tropfen der wässerigen Lösung gab mit Salpetersäure die so charakteristischen Krystalle des salpetersauren Harnstoffs, und auch mit Oxalsäurelösung erhielt ich die charakteristischen Prismen des oxalsauren Harnstoffs. Wie ich erwähnte, und wie auch Herr Claesson gesehen hat, hinterbleibt nach dem Schmelzen der Säure ein Syrup, der auch nach mehrtägigem Stehen nicht krystallisirte. Ich habe ihn durch Erwärmen mit überschüssiger Bleiessiglösung in das Salz $Pb(S—CH_2—CO_2)_2Pb$ verwandelt und durch eine Kohlenwasserstoffbestimmung mich von der Reinheit des Salzes überzeugt. Ich konnte demnach annehmen, dass die Carbaminsulfoessigsäure, vorsichtig bis auf ihren Schmelzpunkt erhitzt, quantitativ in Cyansäure und Sulfoglycolsäure zerfällt. Herr Claesson giebt an, dass der nach dem Schmelzen zurückgebliebene Syrup, mit Wasser versetzt, Krystalle von Senfölessigsäure absetzte. Ich habe in meinem Versuche die Bildung dieser Krystalle nicht beobachtet. Doch habe ich gesehen, dass beim Schmelzen der Carbaminsulfoessigsäure an den Wänden des Kölbchens sich Spuren von Wasserdampf absetzten. Wahrscheinlich ist es also, dass beim stärkeren Erhitzen ein geringer Theil der Säure nach der Gleichung:

$$NH_2—CO—CH_2—CO_2H = CSN—CH_2—CO_2H + H_2O$$

zerfällt.

Den Schmelzpunkt der Säure, den Herr Claesson bei 132 bis 134° angiebt, habe ich wiederholt bei 142 bis 143° gefunden. Was schliesslich den Namen dieser Säure betrifft, so ist es richtiger, sie mit Herrn Claesson als Carbaminthioglycolsäure zu bezeichnen. Mit dem Namen Carbaminschwefelessigsäure wollte ich nur andeuten, dass der Carbaminsäurerest mit der Essigsäure durch das Schwefelatom verkettet wird.

---

## Ueber die Fäulniss des Elastins und Mucins

von

**G. Waelchli.**

Inaug.-Dissertation. Bern. — Journ. prakt. Chem. 17, 7

Die Untersuchungen von Nencki[1]) haben ergeben, dass die Producte, welche aus dem Eiweiss und dem Glutin entstehen, nicht allein quantitativ, sondern auch qualitativ von einander verschieden sind. So giebt Glutin bei der Fäulniss, ähnlich wie durch Kochen mit verdünnten Säuren oder Alkalien, kein Tyrosin, sondern nur Leucin und Glycocoll. Ferner wird in diesem Processe aus Glutin weder Indol noch Phenol gebildet. Auch die flüchtigen Fettsäuren sind verschieden; denn

[1]) Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas. Bern 1876. — Dieser Band S. 181.

während aus dem Glutin fast nur Essigsäure entsteht, liefern Eiweisskörper, wie z. B. Fibrin, Casein oder Eiereiweiss, vorwiegend Buttersäure neben Valeriansäure. Es war nun von Interesse, zu untersuchen, wie Proteïnsubstanzen, die weder zu den Eiweisskörpern par excellence gehören, noch eigentlich leimgebende Stoffe sind, sich bei der pankreatischen Fäulniss verhalten würden. Auf Vorschlag von Prof. Nencki habe ich darauf bezügliche Versuche mit Elastin und Mucin angestellt, und werde im Folgenden die erhaltenen Resultate mittheilen. Vorausschicken will ich noch, dass die Methode der Untersuchung der Fäulnissproducte ziemlich die gleiche war, wie sie Nencki in seinen Untersuchungen angewandt hat.

Elastin. Die elastischen Fasern, welche fast in allen Bindegeweben vorkommen, und die an einzelnen Orten, so namentlich im Nackenband der grösseren Säugethiere in so grossen Mengen auftreten, dass man auch hier von einem selbständigen elastischen Gewebe spricht, sind namentlich von W. Müller[1]) chemisch untersucht worden. Aus dem elastischen Gewebe wird, nach einer ähnlichen Methode, wie man sie zur Darstellung der Cellulose anwendet, das Elastin bereitet. Frisches, sorgfältig präparirtes Nackenband vom Ochsen wird mit einer Mischung von Alkohol und Aether längere Zeit, und hierauf mindestens einen Tag lang mit Wasser gekocht; dadurch wird das Fett und der grösste Theil des im Nackenbande befindlichen Bindegewebes entfernt. Durch Kochen mit Essigsäure, hierauf mit Wasser, sodann mit Kalilauge, bis das Gewebe zu quellen beginnt, und erneutes Kochen mit schwach essigsaurem Wasser, zur Entfernung des Alkalis, wird das Elastin ziemlich rein erhalten. Die letzten Aschenbestandtheile werden durch Behandlung mit kalter concentrirter Salzsäure und nachheriges Auswaschen entfernt. Das so dargestellte Elastin zeigt mikroskopisch noch die wohl erhaltenen elastischen Fasern. Das Elastin ist schwefelfrei und enthält nach W. Müller im Mittel aus vier gut stimmenden Analysen 55.48 Proc. C, 7.41 Proc. H und 16.19 Proc. N. Hilger[2]) fand im Elastin aus Schlangeneiern 54.68 Proc. C, 7.24 Proc. H und 16.37 Proc. N.

Ueber die Spaltungsproducte des Elastins beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure sind die Angaben nicht übereinstimmend. Während Zollikofer[3]) Leucin als das einzige krystallinische Spaltungsproduct angiebt, erhielten Erlenmayer und Schaeffer[4]) aus dem elastischen Gewebe neben 36 bis 45 Proc. Leucin noch 0.25 Proc. Tyrosin. Auch W. Müller (l. c.) giebt an, aus dem Elastin neben Leucin geringe Mengen von Tyrosin erhalten zu haben. In meinem Versuche habe ich 100 g nach obigem Verfahren bereitetes Elastin mit vier Liter destillirten Wassers übergossen, mit 5 g frischem und fein zerhacktem Ochsenpankreas versetzt und das Ganze in einem geräumigen Wasserbade bei 35 bis 40° lose zugedeckt digerirt. Das verdunstende Wasser wurde durch Nachgiessen möglichst auf constantem Volumen erhalten. Das Elastin ging sehr allmählich nach tagelanger Digestion unter Aufquellen in Lösung. Die Anfangs neutrale Reaction wurde erst am sechsten

[1]) Zeitschrift für rat. Medicin **10**, 180. 1861.
[2]) Ber. **6**, 166.
[3]) Ann. Chem. Pharm **82**, 176.
[4]) Journ. prakt. Chem. **80**, 357. 1860.

Tage alkalisch. Erst nach 15 Tagen löste sich das Elastin bis auf einen geringen Rest, der nach dem Trocknen 7 g wog, auf. Die schwach faulig riechende Flüssigkeit wurde, ohne anzusäuern, aus tubulirter Retorte bis etwa auf die Hälfte des ursprünglichen Volumens abdestillirt. Das schwach ammoniakalische Destillat wurde mit Aether ausgeschüttelt, die ätherische Lösung abdestillirt und schliesslich auf einer kleinen Schale der Rest des Aethers verdunstet. Es hinterblieb eine geringe Menge Rückstand, der, an der Luft getrocknet, 0.0515 g wog, der aber bei genauerer Untersuchung sich als Fett, offenbar von den 5 g der Drüse herrührend, erwies. Als der Rückstand mit wenig verdünnter Kalilauge aufgenommen und destillirt wurde, erwies sich das Destillat als vollkommen indol- und phenolfrei.

Der Retortenrückstand wurde sodann mit 100 g Aetzbaryt in einem Liter Wasser gelöst, versetzt und von Neuem destillirt. Das in Salzsäure aufgefangene Destillat betrug 910 ccm, wovon 20 ccm bei der Platinsalmiakbestimmung 0.2227 g Platin = 0.0315 g Stickstoff enthielten, was für das Gesammtdestillat 1.433 g Stickstoff = 1.74 $NH_3$ ergiebt. Aus dem Retortenrückstand wurde der Baryt mit Schwefelsäure ausgefällt und von Neuem destillirt. Eine Probe des Destillates mit den flüchtigen Fettsäuren wurde mit Normalbarytlösung titrirt und der Rest mit Natronlauge neutralisirt und eingedampft. Ich erhielt keine Essigsäure, sondern vorwiegend Valerian- neben wenig Buttersäure. Wurde der Säuregrad auf Valeriansäure bezogen, so erhielt ich im Ganzen 8.15 g Valeriansäure.

Der ammoniak- und säurefreie Rückstand, auf dem Wasserbade bis zu dickem Syrup verdunstet, sodann mit absolutem Alkohol bis zur bleibenden Trübung vermischt, lieferte Krystalle, die, nach 24 stündigem Stehen von der Lauge filtrirt, sich als ein Gemisch von Glycocoll und Leucin etwa zu gleichen Theilen erwiesen. Die Gesammtmenge der nicht weiter gereinigten Krystalle betrug 9.4 g. Durch fractionirte Krystallisation wurde das Glycocoll vom Leucin getrennt. Das Glycocoll, das an der charakteristischen Krystallform und dem süssen Geschmack erkannt wurde, habe ich zur völligen Sicherheit in das Kupfersalz übergeführt und analysirt.

0.2139 g Glycocollkupfer, in offenem Rohre im Platinschiffchen verbrannt, lieferten 0.1711 g $CO_2$, 0.088 g $H_2O$ und 0.0754 g CuO, oder in Procenten ausgedrückt: 21.29 Proc. C, 28.14 Proc. Cu und 4.04 Proc. H.

Die Formel $(NH_2CH_2\text{-}CO_2)_2Cu + H_2O$ verlangt:

| | | |
|---|---|---|
| 20.91 | Proc. | C |
| 4.35 | „ | H |
| 27.67 | „ | Cu. |

Die vom Glycocoll und Leucin filtrirte Mutterlauge gab keine Krystallisation mehr. Auf dem Wasserbade eingetrocknet, blieb sie als eine zähe, fadenziehende, leimähnliche Masse zurück, welche mit Natronlauge und Kupferlösung die für die Peptone charakteristische schöne rothe Biuretreaction gab.

Es ergaben demnach 93 g Elastin, die in der 14 tägigen Fäulniss gelöst wurden, 1.74 g Ammoniak, 8.15 g Valeriansäure, 9.4 g Glycocoll + Leucin, ausserdem Kohlensäure, die das nicht an Valeriansäure gebundene Ammoniak sättigte, und als Hauptmasse die syrupöse, peptonartige Materie. Die durch Fäulniss aus dem Elastin gebildeten Substanzen, sowie das Fehlen irgend eines aromatischen

Spaltungsproductes charakterisiren das Elastin als eine dem Glutin verwandte Substanz, die man daher mit Recht zu einer gemeinschaftlichen Gruppe, nämlich den Proteinsubstanzen des Bindegewebes gehörig, auffassen kann.

Mucin. Das embryonale Bindegewebe, auch Schleimgewebe genannt, zeichnet sich durch einen Reichthum an Mucin aus. Die Kittsubstanz des Bindegewebes giebt Mucin und ist das letztere ein Absonderungsproduct der sämmtlichen Schleimdrüsen. Die Elementaranalysen des Mucins zeigen, namentlich im Stickstoffgehalte, bedeutende Abweichungen von der Zusammensetzung des Albumins. Allerdings stimmen die von verschiedenen Autoren erhaltenen Zahlen wenig überein, wie aus folgender Zusammenstellung hervorgeht [1]):

| 1. | | 2. | | 3. | | 4. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C | 50.6 | C | 52.2 | C | 48.9 | C | 48.8 |
| H | 6.6 | H | 7.2 | H | 6.8 | H | 6.9 |
| N | 10.6 | N | 11.9 | N | 8.5 | N | 8.8 |

1. Aus menschlicher schleimhaltiger Flüssigkeit (Scherer).
2. Aus Submaxillardrüse (Obolensky).
3. Aus Weinbergschnecken (Eichwald).
4. Aus der schlauchförmigen Lederhaut von Holothurien (Hilger).

Die Differenzen der erhaltenen Zahlen können davon herrühren, dass die Mucine verschiedenen Ursprungs nicht identisch sind, oder, wahrscheinlicher ist, dass die stickstoffreicheren Präparate nicht hinreichend von Eiweiss befreit wurden. Ich habe das Mucin aus den Weinbergschnecken (*Helix pomatia*) bereitet und zwar auf folgende Weise: Mit einem Hammer wurde das Gehäuse zerschlagen und das Thier in kleine Stücke zerschnitten. Es quillt dabei eine schleimige, bläulich opalisirende Flüssigkeit hervor, die jedoch keine Mucinreaction giebt. Die zerschnittenen Schnecken wurden mit Glaspulver fein zerrieben, die breiige Masse auf Filzfilter gebracht und mit siedend heissem Wasser übergossen. Das gelblich opalisirende Filtrat, mit starker überschüssiger Essigsäure versetzt, giebt reichlich einen weissen, flockigen Niederschlag von Mucin. Das Auswaschen des Filters mit siedendem Wasser wurde so lange fortgesetzt, bis Essigsäure im Filtrate nur eine geringe Trübung erzeugte. Nachdem sich das Mucin am Boden des Gefässes abgesetzt hatte, wurde decantirt, der Mucinniederschlag auf ein Filter gebracht und auf Fliesspapier getrocknet. Sobald sich derselbe vom Papier gut abheben liess, wurde er in Flaschen vertheilt und zur Entfernung der Essigsäure und des Fettes mehrfach mit Aether geschüttelt, schliesslich an der Luft getrocknet. So stellte das Mucin eine schwärzliche, zähe Masse dar. 223 g des lufttrockenen Mucins, entsprechend 163 g bei 120° C. getrockneter Substanz, wurden in einem Topfe mit vier Litern destillirten Wassers übergossen, mit 5 g Ochsenpankreas versetzt und auf dem Wasserbade bei 35 bis 40° C. digerirt. Am neunten Tage hatte sich das Mucin fast vollständig gelöst, so dass der nicht gelöste Mucinrückstand nach dem Trocknen nur 6.8 g wog. Die stark faulig riechende Flüssigkeit wurde nunmehr der Destillation unterworfen. Da

[1]) Eichwald, Beiträge zur Chemie der gewebebildenden Substanzen, Berlin 1873, S. 178.

eine Probe des Destillates mit einem Tropfen rauchender Salpetersäure keine Indolreaction zeigte, so wurde das Gesammtdestillat mit Natronlauge gesättigt und mit Aether ausgeschüttelt. Es hinterblieb in geringer Menge ein Oel, das auch nach längerem Stehen nicht krystallinisch erstarrte, und das weniger den Indolgeruch, als eigentlich den sehr widrigen Geruch nach jener öligen Substanz gab, welche Herr Dr. Brieger im hiesigen Laboratorium aus Hundeexcrementen und stinkenden pathologischen Flüssigkeiten isolirte. Das ganze Oel wurde mit Wasser ausgekocht, wobei nur ein geringer Theil in Lösung ging. Das Filtrat, welches beim Erkalten stark milchig wurde, setzte nach einigen Stunden krystallinische Blättchen ab, die sich als Indol erwiesen. Das Filtrat vom auskrystallisirten Indol wurde mit etwas Wasser verdünnt, mit einigen Tropfen Kalilauge versetzt, und so lange aus einer kleinen Retorte destillirt, bis im Destillate Indol nachweisbar war. Hierauf wurde der Retortenrückstand mit verdünnter Schwefelsäure übersättigt und von Neuem destillirt. Die übergehende Flüssigkeit roch nach Phenol und gab mit Bromwasser eine weisse, krystallinische Masse von Tribomphenol. Bei der Fäulniss des Mucins entsteht demnach sowohl Indol als Phenol. Die Hauptmasse der flüchtigen Substanzen bildete dieser eigenthümlich riechende ölige Körper, der aber zur weiteren Untersuchung wenig geeignet war. Die weitere Verarbeitung der Mucinflüssigkeit geschah genau nach dem gleichen Procedere wie beim Elastin. Die Menge des Barytdestillats betrug 1520 ccm. In 20 ccm derselben fand ich bei der Platinsalmiakbestimmung 0.1880 g Pt = 2.87 g N, in 1520 ccm Flüssigkeit = 3.4 g $NH_3$. Die flüchtigen Fettsäuren aus dem Mucin bestanden fast nur aus Buttersäure. Wurde der Säuregrad auf letztere bezogen, so erhielt ich 12.3 g Buttersäure. Der säure- und ammoniakfreie Rückstand enthielt eine nicht krystallisirende, süss schmeckende, Fehling'sche Lösung kräftig reducirende Substanz, die kohlensaures Kupfer und kohlensaures Baryum zersetzte, anscheinend damit amorphe, durch Alkohol fällbare Salze bildend. Ich erhielt daher bei der Fäulniss jedenfalls den gleichen zuckerartigen Körper, auf dessen Abspaltung aus dem Mucin zuerst Eichwald aufmerksam machte. Leider ist mir durch einen Unglücksfall das ganze Material verloren gegangen. Die ganze vom Mucin erhaltene Flüssigkeit, die ich in einer Hartglasschale stehen hatte, fand ich am folgenden Morgen nicht mehr, indem die Schale in tausend kleine Splitter zersprungen war und so das Resultat einer mehrwöchentlichen Arbeit vernichtet wurde. Immerhin bestätigen die auf dem Wege der Fäulniss erhaltenen Resultate ebenfalls die Ansicht, dass das Mucin ein Paarling von Eiweiss mit einem zuckerartigen Körper ist.

Im Anschlusse hieran möchte ich noch eine die Indoldarstellung aus der Pankreasfäulniss betreffende Bemerkung hinzufügen. Baeyer und Caro[1]) machten die Beobachtung, dass Indol und Pikrinsäure beide in Benzol gelöst eine schön krystallisirende Pikrinsäureverbindung des Indols geben, aus welcher Verbindung dann das Indol durch Destillation mit Ammoniak isolirt werden kann. Prof. Nencki theilte mir mit, dass auch aus den Destillaten von Eiweissfäulniss das Indol durch Pikrinsäure gefällt werden kann, nur müssen die Destillate vorher stark mit Salz-

[1]) Ber. 10, 1263.

säure angesäuert werden. Da durch diese Methode der Indolbereitung aus der Fäulniss sich die Extraction mit Aether umgehen liesse, habe ich auf seinen Wunsch folgende Versuche angestellt.

784.8 g Ochsenpankreas herauspräparirt und fein zerhackt wurden sechs Mal 24 Stunden bei 35 bis 40° mit fünf Litern Wasser digerirt, sodann die Flüssigkeit ohne vorheriges Ansäuern destillirt. Das Destillat wurde nun mit concentrirter Pikrinsäure versetzt, nachdem es vorher mit HCl stark angesäuert war. Das abgeschiedene und bis zum constanten Gewichte über Schwefelsäure getrocknete pikrinsaure Indol wog 0.519 g. In einem zweiten Versuch nahm ich 1072.5 g gereinigtes Pankreas und verfuhr genau wie oben, nur mit der Modification, dass die gefaulte Masse vor dem Destilliren mit Essigsäure angesäuert wurde. Ich erhielt so 0.4252 g der Indolpikrinsäureverbindung. In allen Fällen ist die Ausfällung keine vollständige, da die Filtrate noch stark nach Indol rochen; auch erhält man bei der Destillation der Pikrinsäureverbindung mit wässerigem Ammoniak verhältnissmässig nur wenig Indol, so dass die frühere Methode, Extraction mit Aether, was die Ausbeute anbetrifft, vortheilhafter ist.

Nencki's physiologisch-chemisches Laboratorium in Bern.

---

# Ueber die Zersetzung des Blutes durch Bacillus subtilis

von

**C. Kaufmann.**

Inaug.-Dissert. Bern. — Journ. prakt. Chem. **17**. 79.

Die Untersuchungen von Prof. Nencki über die Zersetzung der Eiweissstoffe und des Glutins bei der Digestion mit Pankreas haben gezeigt, dass die normale Darmverdauung zum guten Theil Fäulniss ist, d. h. Zersetzung der Nahrungsstoffe im Darme durch die mit der Nahrung aufgenommenen, Fäulniss bewirkenden Organismen. Seither hat Dr. Brieger alle die Spaltungsproducte der Eiweisskörper, die man bei der Fäulniss der letzteren erhält, zum Theil aus dem Dünndarminhalt, namentlich aber aus den menschlichen Excrementen isolirt, wodurch es festgestellt ist, dass die Fäulniss im Verdauungsrohr des Menschen und der Thiere ein normaler Process ist und es sind auch bereits bestimmte Anhaltspunkte gegeben, so namentlich in der Menge des gebildeten Phenols und Indols, um den Grad der Intensität der Darmfäulniss annähernd schätzen zu können. Hauptsächlich wohl von dem Darmrohr aus verbreiten sich die Keime dieser Fäulnissorganismen in die sämmtlichen Gewebe des Thierkörpers, wie dies namentlich aus den Untersuchungen von Béchamp[1]) und Tiegel[2]) hervorgeht. Für diese Art ihrer Verbreitung spricht

[1]) Des Mikrozymas u. s. w. p. J. Béchamp. Paris 1875.
[2]) Virchow's Archiv **60**. 453.

auch der Umstand, dass die dem Darmrohr zunächst liegenden und mit ihm durch ihre Ausführungsgänge communicirenden Drüsen, nämlich die Leber und das Pankreas, der Hauptsitz der Keime der Fäulnissorganismen sind. Sehr nahe liegt nun die Frage, warum, trotzdem die Keime der Fäulnissfermente in allen Geweben des Thierkörpers vorkommen, ihre Wirksamkeit nur auf den Inhalt des Darmrohres beschränkt ist.

Schon morphologisch sind hier Unterschiede bemerkbar. Während im Darmrohr die verschiedensten Formen der Spaltpilze, wie Coccen, Streptococcen, Stäbchen, Köpfchenbacterien u. s. w. stets vorkommen, finden sich nach Prof. Nencki [1]) im Pankreas soeben getödteter Thiere nur die isolirten Coccos von 1 bis 3 Mikrometer Durchmesser und nirgendwo ist in den Geweben gesunder Thiere ein Zeichen putrider Zersetzung bemerkbar. In seiner kürzlich erschienenen Arbeit beantwortet Nägeli [2]) die obige Frage in folgender Weise (S. 41): „Es besteht im menschlichen Körper immer ein Kampf zwischen den eingedrungenen Spaltpilzen und den Lebenskräften. Nur in Höhlungen, Flüssigkeiten und festen Massen, wo die Lebenskräfte unwirksam sind, wie im Darmcanal, ferner in abgestorbenen und krankhaft stark afficirten Theilen können die Spaltpilze, weil eine Concurrenz nicht besteht, sich jederzeit entsprechend den gegebenen Ernährungsverhältnissen vermehren, und man findet sie dem entsprechend in grösserer oder geringerer Menge. In allen übrigen Theilen kommt es auf die Stärke der Concurrenten an, somit vorzüglich auf die grössere oder geringere Widerstandsfähigkeit des menschlichen Organismus.“ Wenn auch die Erklärung Nägeli's in dieser Allgemeinheit richtig ist, so sind wir mit dem Worte „Lebenskräfte“ dem Verständniss nicht näher gerückt. Eine Lebenkraft giebt es nicht. Es giebt bestimmte physikalische und chemische Processe in den Zellen des Thierkörpers, deren Resultante das Leben ist. Erst mit der Auffindung der physikalischen oder chemischen Ursachen hierfür wird eine hinreichende Aufklärung gegeben.

Vor Kurzem erschien eine Arbeit von Grossmann und Mayerhausen über das Leben der Bacterien in Gasen [3]). Ein sehr bemerkenswerthes Resultat dieser Untersuchungen ist das differente Verhalten der Bacterien dem Sauerstoff und Ozon gegenüber. Während der Lebensprocess der Bacterien im Sauerstoffgase nach jeder Richtung hin erhöht wird (beschleunigte Bewegung und rapide Formveränderung) ist die Wirkung des Ozons eine gerade entgegengesetzte. Ozon tödtet die Bacterien in jedem Stadium ihrer Entwickelung in sehr kurzer Zeit und fast momentan, sobald das Gas in hinreichender Concentration auf diese Organismen einwirken kann.

Die physiologische Chemie weist manche Thatsache auf, wonach die grösste Aehnlichkeit zwischen den Oxydationen organischer Verbindungen mittelst Ozon und solcher im Thierkörper besteht. So fand v. Gorup-Besanez [4]) gelegentlich

[1]) Nencki, Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses. Bern 1876. (Festschrift.) — Dieser Band S. 181.

[2]) Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infectionskrankheiten und der Gesundheitspflege. München 1877.

[3]) Pflüger's Archiv **15**, 245.

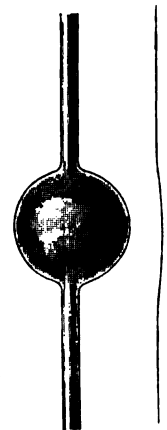
[4]) Ann. Chem. Pharm. **110**.

ıer Untersuchungen über die Einwirkung des Ozons auf organische Verbindungen, s Harnsäure durch Ozon zu Allantoin und Harnstoff oxydirt wird. Andererseits tätigte neuerdings Salkowski[1]) die ältere Angabe, dass Thiere, mit Harnsäure üttert, dafür Allantoin und Harnstoff ausscheiden. Als analoge Thatsache ist ıer anzuführen, dass Nencki[2]) durch Oxydation von Indol mit Ozon Indigblau alten hat. Bekanntlich geht aber Indol, dem Thierkörper zugeführt, als die igblau bildende Substanz in den Harn über. Wenn auch die Angabe Alexander hmidt's[3]), dass die rothen Blutkörperchen den Sauerstoff ozonisiren, durch die beit von Nasse[4]) und die späteren von Pflüger[5]) und Hoppe-Seyler[6]) unwahreinlich geworden, so ist doch die oben erwähnte und thatsächlich erwiesene alogie in Bezug auf die Oxydationen im Thierkörper und durch Ozon auffallend ıug, und der Gedanke lag nahe, das Verhalten der Fäulnissfermente im Sauerffgas bei Gegenwart rother Blutkörperchen zu prüfen. Von diesem Gesichtspunkte ; habe ich auf Anregung von Herrn Prof. Nencki folgende Versuche angestellt.

Frisch aus der Ader gelassenes, meistens Kaninchenblut, wurde defibrinirt 1 davon einige Tropfen in eine feuchte capillare Kammer[7]), wie sie die ;. 1 und 2 zeigt, eingesogen, sodann eine ungefähr gleiche Menge Bacterienlösung t dem Blute in der Kammer gehörig vermischt, und um das iparat genügend durchsichtig zu haben, so viel Flüssigkeit aus r Kammer wieder entfernt, dass nur der capillare Raum letzterer d seine nächste Umgebung davon eingenommen war. Durch ese Kammer wurde jetzt beständig Sauerstoff geleitet, der zuvor ırch Kalilauge und Schwefelsäure gereinigt worden. Die mikroopische Beobachtung wurde mit dem Leitz'schen Ocular III, bj. IX Immersions-System, Vergrösserung 1050 gemacht. Das rrangement des Versuches hatte also zum Zwecke, einmal den utkörperchen beständig in reichlicher Menge Sauerstoff zuzuhren und sodann Blutkörperchen und Bacterien zu gleicher Zeit :obachten zu können.

Fig. 1 und 2.

Was die Bacterien selbst betrifft, so studirte ich besonders ıs Verhalten der Stäbchenform derselben, der Bacillen (Bacillus btilis, Cohn), die ich allerdings nicht bei allen Versuchen rein ıwenden konnte. Ich bestimmte mich deswegen zu dieser Form, weil bei ihr :sonders deutlich die Eigenbewegung von der Molekularbewegung unterschieden erden kann, was ja bei den Coccen meist so schwer hält.

---

[1]) Ber. **9**, 719.
[2]) Ebenda **8**, 722. — Dieser Band S. 115.
[3]) Ueber Ozon im Blute. 1862.
[4]) Pflüger's Archiv **3**.
[5]) Ebenda **10**, 245.
[6]) Medic. chem. Untersuchungen. 1866.
[7]) In seinem kürzlich erschienenen Werke über das Bier: Paris 1876, S. 153, bemerkt 'asteur, dass er zuerst an Geissler die Form dieser Kammer für mikroskopische Beobachtung angegeben habe. Sie ist in Deutschland unter dem Namen feuchte Kammer nach Recklinghausen bekannt.

Um mir vor allem Gewissheit zu verschaffen, ob die Anordnung der Versuche in Wirklichkeit ihrem Zwecke entspreche, leitete ich zunächst den Sauerstoffstrom durch eine in die feuchte Kammer gebrachte Bacterienlösung, die von faulendem Blute gewonnen war und fast einzig aus sehr schönen, lebhaft sich bewegenden Bacillen und nur ganz wenigen Coccen bestand. Zunächst schien die Einwirkung des Sauerstoffs auf die Bacillen ohne Einfluss zu sein. Nach zweistündiger Durchleitung des Gases aber wurde ihre Bewegung lebhafter, und blieb es nun während drei Tagen, wo ich die Bacillen noch immer ziemlich beweglich fand, zugleich aber eine bedeutende Vermehrung und Zerfall in kleinere Individuen constatirte.

Dieser vorläufige Versuch bestätigt demnach die Resultate von Grossmann und Mayerhausen[1]) bezüglich der Einwirkung des Sauerstoffs auf die Bacterien vollkommen, obgleich ihre Versuche in etwas anderer Weise (mittelst der Engelmann'schen Gaskammer) angestellt worden. Auch ich habe die beschleunigte Bewegung und die numerische Vermehrung der Formen durch Theilung im Sauerstoffgase constatiren können.

## I. Versuch mit Froschblut.

Den 18. September Morgens 11 Uhr wird in die Recklinghausen'sche Kammer defibrinirtes Blut von einem soeben decapitirten Frosche gebracht und damit gemischt ein gleiches Volumen einer Flüssigkeit von einer dreitägigen Pankreasdigestion bei Luftzutritt, welche neben Mono-, Diplo- und Streptococcus ungefähr eben so viel Bacillen und zwar kleinere und grössere enthielt. Besonders lebhaft bewegen sich die Bacillen, sie schiessen beständig durch das Gesichtsfeld. Nunmehr wird Sauerstoff bei Zimmertemperatur, die während der ganzen Versuchsreihe zwischen 10 und 15° C. schwankte, durchgeleitet.

Mittags 12 Uhr findet sich noch keine Veränderung: Die Form der Blutkörperchen ist ganz gut erhalten, die Bacillen bewegen sich ebenso wie zu Anfang des Versuches.

Nachmittags 2 Uhr: Als auffälligstes ist zu constatiren, dass die Bacillen ihre Eigenbewegung verloren haben und einzig noch Molekularbewegung zeigen. Die Blutkörperchen sind unverändert.

Nachmittags 4 Uhr: Status idem.

Stündlich wurde nachgesehen, aber bis Abends 9 Uhr keine weitere Veränderung mehr constatirt.

Der Sauerstoffstrom wurde ununterbrochen bis 23. September durchgeleitet, wo dann Morgens 10 Uhr folgender Status notirt wurde: Bacillen ganz unbeweglich. Blutkörperchen in ihrer äusseren Form vollkommen unverändert, hier und da erscheint der Kern leicht granulirt.

Die beiden Enden der feuchten Kammer werden jetzt zugeschmolzen und das Präparat bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt.

September 26: Viele Blutkörperchen zeigen die runde Form, der Kern ist sehr häufig granulirt, Streifen oder buckelförmige Fortsätze fehlen ganz. — Die kleineren Bacillen sind etwas vermehrt, doch unbeweglich.

[1]) l. c., S. 259.

September 28: Die Blutkörperchen sind zum Theil rund, zum Theil noch oval; viele derselben sind aber vollständig entfärbt und zeigen das Stroma nebst deutlich granulirtem Kern. Die Bacterien haben sich reichlich vermehrt, es finden sich Coccen und kleinere Bacillen in lebhafter Bewegung. — Die spectroskopische Untersuchung der Flüssigkeit ergiebt einen breiten diffusen Streifen an der Stelle der beiden Oxyhämoglobinstreifen.

October 1: Die Bacterien sind in lebhaftester Bewegung, sowohl die Coccen wie die Bacillen. Von Blutkörperchen ist der grösste Theil verschwunden, der Rest weist sowohl entfärbte als noch normal gefärbte, ovale wie rundliche Kügelchen, meist mit deutlich granulirtem Kerne auf.

## II. Versuche mit Kaninchenblut.

1. Versuch. September 28. Morgens 10 Uhr wird in der feuchten Kammer unmittelbar zuvor aus der Vena jugularis eines Kaninchens entleertes und defibrinirtes Blut mit einer Bacterienlösung von seit elf Tagen faulendem Blut, die aus ganz unbeweglichen, meist sehr langen Bacillen und ebenfalls unbeweglichen Coccen besteht, gemischt und dann continuirlich Sauerstoff durchgeleitet.

Mittags 12 Uhr: Blutkörperchen unverändert, Bacterien wie zu Anfang des Versuches ganz unbeweglich.

September 29. Morgens 10 Uhr: Von den Blutkörperchen sind einzelne leicht zackig, zeigen sonst keine Veränderungen. Mikroorganismen unbeweglich.

October 1. Morgens 10 Uhr: Unterbrechung des Versuches, da keine weiteren Veränderungen eingetreten. Von den Blutkörperchen zeigen einzelne die Maulbeerform, andere sind noch ganz unverändert. Bacterien ganz unbeweglich.

2. Versuch. October 3. Mittags 12 Uhr: Auf gleiche Weise wie im vorigen Versuche wird frisches defibrinirtes Kaninchenblut in die feuchte Kammer gebracht und damit seit 10 Tagen faulendes Ochsenblut vermischt. In letzterem finden sich sehr lebhaft bewegliche Bacterien und zwar fast einzig sehr lange schöne Bacillen, in ganz geringer Zahl noch kleinste Coccen.

Nachmittags 2 Uhr: Keine besonderen Veränderungen, Beweglichkeit der Bacillen ziemlich gleich wie Anfangs.

Nachmittags 4 Uhr: Die Blutkörperchen zeigen gar keine Veränderung, die Bacillen sind hingegen vollkommen unbeweglich, zeigen nur leicht vibrirende Molekularbewegung.

October 4. Nachmittags 2 Uhr: Status idem. Die feuchte Kammer wird jetzt an beiden Enden zugeschmolzen und bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt.

October 6. Morgens 10 Uhr: Von den Blutkörperchen sind nur noch wenige vorhanden, die Flüssigkeit ist gleichmässig gelbgrünlich gefärbt, offenbar von in Lösung übergegangenem Hämoglobin. Die langen Bacillen sind ganz verschwunden, dafür finden sich kleinere Stäbchen und nicht sehr reichliche Coccen, wenig beweglich.

Der Versuch wird unterbrochen.

3. Versuch. October 9. Morgens 10 Uhr: Aus der Arteria femoralis eines Kaninchens soeben entnommenes und defibrinirtes Blut wird mit seit 24. September

aufgestelltem faulendem Ochsenblut in der feuchten Kammer vermischt. Die Mikroorganismen sind fast ausschliesslich sehr lange, lebhaft sich bewegende Bacillen nebst vereinzelten Coccen.

Mittags 12 Uhr: Nach zweistündiger Durchleitung des Sauerstoffs sind die Blutkörperchen unverändert, die Bacillen lebhaft beweglich.

Nachmittags 2 und 4 Uhr: Status idem.

Abends 6 Uhr: Die Bacillen sind viel weniger beweglich. Während man [illegible] Anfangs in lebhaftester Weise das Gesichtsfeld durchschiessen sah, dauert es je[illegible] stets einige Zeit, bis ein einzelnes Individuum aus dem Gesichtsfeld verschwind[illegible]

Abends 9 Uhr zeigen einige Blutkörperchen exquisite Maulbeerform. [illegible] Bacillen sind ganz unbeweglich.

Den folgenden Tag finde ich leider das Präparat vertrocknet.

4. Versuch. October 10. Abends 5 Uhr wird ebenfalls aus der Art[illegible] femoralis eines Kaninchens entnommenes und defibrinirtes Blut mit einer leb[illegible] sich bewegende Bacillen enthaltenden Faulflüssigkeit in der feuchten Kammer [illegible]mischt und Sauerstoff durchgeleitet.

Abends 8 Uhr ist das Präparat noch ganz unverändert.

October 11. Morgens 10 Uhr: Vollkommener Stillstand aller Bacill[illegible] Blutkörperchen meist intact, nur wenige zeigen die Maulbeerform.

Der Sauerstoffstrom wird unterbrochen und die beiden Enden der feuc[illegible]te Kammer werden zugeschmolzen.

October 16. Morgens 10 Uhr: Die meisten Blutkörperchen haben die Maulbeerform, daneben sind aber noch ganz unveränderte zu sehen. Bacillen in ihrer Form nicht verändert, doch ganz unbeweglich.

October 22. Mittags 12 Uhr: Von Mikroorganismen finden sich schwach bewegliche Coccen und kleinste Bacillen. Keine Blutkörperchen mehr sichtbar. Flüssigkeit noch gleichmässig gelbröthlich, offenbar von dem in Lösung übergegangenen Hämoglobin, enthält nur reichlich Detritusmassen.

Bei der spectroskopischen Untersuchung liefert die Flüssigkeit noch deutlich das Hämoglobinspectrum.

Ich hätte noch mehr dieser Versuche wiederholt, doch schien mir dies unnöthig, da der Befund in den angestellten constant der gleiche war.

Uebersehen wir nun diese Versuche, so ist ein Resultat derselben unmittelbar in die Augen springend, dass nämlich die Anfangs meist sehr beweglichen Bacillen nach kürzerer oder längerer Zeit vollkommen unbeweglich geworden. Bei Anwesenheit der Blutkörperchen wirkt demnach der Sauerstoff nicht mehr als Excitans auf die Bacillen, sondern im Gegentheil ganz analog dem Ozon, er bedingt völligen Stillstand derselben. Allerdings erfolgte die Wirkung nicht mit der Schnelligkeit wie bei den Versuchen von Grossmann und Mayerhausen, welche sie mittelst Ozon durchschnittlich zwischen 1 bis 5 Minuten auftreten sahen. Bei dem Versuche mit Froschblut konnte sie erst nach 3 Stunden, beim Kaninchenblute nach 4 (II. Vers.), 11 (III. Vers.) und 17 Stunden (IV. Vers.) beobachtet werden. Wird die Sauerstoffdurchleitung unterbrochen, so tritt, wie meine Versuche zeigen, die Fäulniss constant ein.

Was das Verhalten der Blutkörperchen betrifft, so ist bei dem Versuche mit Frosch-
, den ich während zwei Wochen beobachten konnte, geradezu auffällig, wie
ge sich die Blutkörperchen unverändert erhalten haben. Nach den Angaben von
chs[1]) kommt es bei den Froschblutkörperchen, wenn man einen Tropfen Blut
er gewöhnlichen Bedingungen unter das Mikroskop bringt, schon in den ersten
nden zur Vacuolenbildung, dann zur Abschnürung grüner Kugeln, hernach im
nmer schon nach 3 Stunden, im Winter dagegen erst nach 3 bis 6 Tagen
dem Auftreten von schmalen hellen Linien auf den Blutkörperchen; nach-
erst folgt der Austritt des Kernes, und das Blutkörperchen wird in einen grün-
en Tropfen verwandelt. Der Kern selbst zeigt zur Zeit, wo die hellen Streifen
dem Blutkörperchen sichtbar werden, ein fleckiges, nachher ein grob- und fein-
niges Aussehen, später wird es zu einer wachsartig glänzenden Kugel und tritt
n aus dem Blutkörperchen aus. Bei meinem Versuche konnte ich während der
'age, wo der Sauerstoffstrom ununterbrochen durchgeleitet worden, gar keine
änderungen an den Blutkörperchen constatiren. Erst am 6. Tage fand ich
eilen leicht granulirten Kern, sonst keine Veränderungen und 2 Tage später er-
enen zahlreiche Blutkörperchen völlig entfärbt und zeigten das Stroma. Aller-
gs habe ich von dem Zeitpunkte ab, wo der Sauerstoffstrom unterbrochen wurde,
Beobachtungen nicht häufig genug gemacht, um Genaueres über die ferneren
änderungen der Blutkörperchen angeben zu können. Es genügte mir eben vor
m, den Mangel jeglicher Veränderung während der 5 Tage, wo der Sauerstoff-
m durchgeleitet worden, zu constatiren.

Aus den Versuchen mit Kaninchenblut geht so viel sicher hervor, dass die dort
egebenen Veränderungen der rothen Blutkörperchen jedenfalls nicht rascher, viel-
ır noch langsamer aufgetreten sind, als man sie beobachtet, wenn man einen
pfen Blut in gewöhnlicher Weise unter das Mikroskop bringt.

Ich muss mir allerdings gestehen, dass meine Versuche nicht ganz danach an-
nan sind, dass deren Resultat unmittelbar auf den lebenden Organismus über-
gen werden könnte. Wir haben es mit defibrinirtem Blute zu thun, die Versuche
rden bei der jeweiligen Zimmertemperatur und nicht bei Körpertemperatur an-
tellt, die Respiration und Circulation des Blutes im lebendigen Körper konnten
r nicht nachgeahmt werden, kurz, es lässt sich bei Weitem nicht an die Ver-
tnisse des Organismus denken. Was ich einzig zu erreichen strebte, war die be-
ndige Zuführung von genügendem Sauerstoff für die Blutkörperchen, und dabei
denn das Resultat, dass unter dieser Bedingung bei den Bacillen nicht die Wirkung
Sauerstoffs, sondern die gegentheilige des Ozons auftrat, immerhin beachtens-
rth, zumal wir ja, wie bereits angeführt, schon Vorgänge im Organismus kennen,
wir mittelst Ozon ausserhalb desselben völlig imitiren können. Es wird durch
ne Versuche wahrscheinlich gemacht, dass der Grund, warum im normalen Zu-
de im Blute gar keine und im pathologisch veränderten so selten Bacterien ge-
len werden, in der deletären Wirkung des Blutsauerstoffs auf die Bacterien
, und es ist dies vielleicht der Grund, warum die Mikroorganismen, deren Keime

[1]) Virchow's Archiv **71**, Heft 1.

fast in allen Geweben des gesunden Thierkörpers vorkommen, nicht zu ihrer Entwickelung und Lebensthätigkeit im Blute und den Geweben kommen können.

Wie in den angeführten Versuchen erwähnt, wurden die Blutkörperchen, nachdem kein Sauerstoff mehr durchgeleitet wurde, zerstört und die Bacillen zeigten ihre Beweglichkeit und vermehrten sich von Neuem. Um die Zersetzungsproducte der Blutkörperchen durch die Bacillenfäulniss näher kennen zu lernen, habe ich folgende Versuche angestellt:

1. Versuch. 2 Liter frisches, defibrinirtes Ochsenblut wurden mit dem zehnfachen Volumen einer Mischung von 1 Vol. gesättigter Kochsalzlösung und 9 Vol. Wasser vermischt und sodann 40 Stunden lang stehen gelassen. Nach Verlauf dieser Zeit haben sich die Blutkörperchen gesenkt, worauf die darüberstehende röthlich gefärbte Flüssigkeit abgegossen und der schlammige Bodensatz, aus Blutkörperchen bestehend, mit 5 Liter destillirten Wassers verdünnt, sodann mit 5.0 g frischen Ochsenpankreas versetzt und auf dem Wasserbade bei 40° C. digerirt wurde. Das verdampfende Wasser wurde während des Versuches durch Nachgiessen von Zeit zu Zeit auf möglichst constantem Volumen erhalten. Schon nach 24 Stunden hatte die Flüssigkeit einen fauligen Geruch angenommen, und an ihrer Oberfläche hatte sich eine dünne rothbraune Kruste abgesetzt. In der Flüssigkeit finden sich keine Blutkörperchen mehr, sie enthält vielmehr nur körnigen Detritus und von Mikroorganismen zahlreiche Zooglöahaufen aus feinsten Kügelchen von 0.5 bis 1.5 Mikrom. Durchmesser bestehend. Am folgenden Tage werden die rothbraunen Krusten stärker, die, zwischen Fliesspapier abgepresst und getrocknet, in verdünnter Natronlage oder Ammoniak leicht löslich sind und das Spectrum des Hämatins zeigen. Die gelöste faulende Flüssigkeit zeigt dagegen die charakteristische beiden Streifen des Oxyhämoglobins. — Noch am 3. Tage nach Beginn d Versuches bestanden die Mikroorganismen aus reichlichen Zooglöahaufen u kleinsten Stäbchen von 3 bis 5 Mikrometer Länge und vereinzelten Coccen. beiden letzteren lebhaft beweglich.

Am 5. Versuchstage hingegen constatirte die mikroskopische Untersuchu bloss in lebhafter schlangenartiger Bewegung begriffene Bacillen von 10 bis 25 Mikro Länge und etwa 2 Mikrometer Dicke. 3 Tage lang waren die Bacillen einzig der Flüssigkeit vorhanden, stets lebhaft beweglich. Am 10. Versuchstage ware dagegen bereits von Neuem Coccen vorhanden. Die Bacillen fanden sich zu Theil in sehr langen, mehrfach winkelig abgeknickten Exemplaren. Am folgende Tage bestanden die Mikroorganismen etwa zu gleichen Theilen aus Coccen un Bacillen. Die letzteren zeigten keine Eigenbewegung mehr. Von nun ab bis zu 16. Tage, wo der Versuch unterbrochen wurde, war der mikroskopische Befun stets wie der zuletzt beschriebene. An der Oberfläche und den Rändern der Flüssi keit setzte sich viel Hämatin in Krusten ab, hingegen zeigte die Flüssigkeit, spec troskopisch untersucht, noch immer die zwei Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobin

Trotzdem die Flüssigkeit noch ziemlich eiweisshaltig war, wurde sie nunmel in einer tubulirten Retorte der Destillation unterworfen. Aus den Destillaten wur

nach der bekannten Methode in verhältnissmässig geringer Menge Indol und gar kein Phenol erhalten. Der Retortenrückstand filtrirt und auf dem Wasserbade verdunstet, gab eine reichliche Krystallisation von Tyrosin und Leucin. Durch fractionirte Krystallisation wurden die beiden Substanzen von einander getrennt. Das erhaltene Tyrosin, das ich in chemisch reinem Zustande in den Händen hatte, wurde durch alle Reactionen als solches identificirt. Das Leucin, welches geschmacklos war und in Drüsen aus concentrischen Nadeln bestehend krystallisirte, wurde, um eine Verwechselung etwa mit Amidovaleriansäure zu vermeiden, analysirt und lieferte folgende Zahlen:

0.1337 g der dreimal aus Wasser umkrystallisirten, schliesslich aus Alkohol gefällten, aschefreien und über $SO_4H_2$ getrockneten Substanz gaben:

$CO_2$ = 0.2681 g = 54.64 Proc. C
$H_2O$ = 0.1193 g = 9.91 „ H.

Die Formel des Leucins aber verlangt:

54.96 Proc. C und
9.92 „ H.

In den Laugen waren ausser Peptonen in beträchtlicher Menge flüchtige Fettsäuren an Ammoniak gebunden; sie wurden nicht näher untersucht.

In einem 2. Versuche, wo die Blutkörperchen aus 2 Liter Blut isolirt wurden, habe ich absichtlich kein Pankreas zugesetzt, um die Zersetzung bei alleinigem Zutritt der in der Laboratoriumsluft suspendirten Keime studiren zu können.

Schon am folgenden Tage ergiebt die mikroskopische Untersuchung, dass die Mikroorganismen reichlich vorhanden sind und zwar besonders in Form von Zooglöamassen und kleinsten Stäbchen, die zum Theil, wie die Halme auf einem Rasen, so den feinkörnigen Zooglöamassen aufsitzen und höchstens leicht flottirende Bewegungen machen, zum Theil aber auch frei in der Flüssigkeit herumschwimmen und dabei ziemlich lebhafte Beweglichkeit zeigen.

In den nächsten Tagen waren die Veränderungen sehr minim, die Blutflüssigkeit hatte gar keinen Geruch, die Mikroorganismen waren sich gleich geblieben, weswegen, um den Zersetzungsprocess zu beschleunigen, am 8. Tage der Topf, in welchem das Versuchsobject sich befand, in ein Wasserbad gebracht, dessen Temperatur beständig auf 35 bis 40° C. erhalten wurde. Nach 2 Tagen hatten sich auf der Oberfläche bereits die auch im vorigen Versuche beobachteten Krusten gebildet, die wie dort nach Auflösung in Natronlauge das Spectrum des Hämatins zeigten. Geruch der Flüssigkeit ziemlich intensiv nach Indol.

October 19. (11. Tag nach Beginn des Versuches): Während bisher die mikroskopische Untersuchung auf Mikroorganismen noch immer Zooglöamassen nebst kleinsten Stäbchen ergeben hatte, finden sich dagegen heute sehr reichliche, lebhaft sich bewegende Bacillen, daneben fast keine Coccen. Am folgenden Tage waren die Bacillen noch viel reichlicher, sehr lang und dick, lebhaft schlängelnde Bewegungen zeigend. Die Coccen fehlen vollständig.

Schon nach zwei Tagen sind die Bacillen wieder viel spärlicher, zudem auffällig dünn und kurz. Daneben aber finden sich reichliche Coccen, meist in einfacher runder oder längsovaler Form.

Der Versuch wurde am 6. November, also nach 29 Tagen, unterbrochen, da jetzt das Hämoglobinspectrum der Flüssigkeit so ziemlich die gleiche Intensität zeigte wie im vorigen Versuche zur Zeit der Destillation. Auch die übrigen Verhältnisse waren ganz analog den im 1. Versuche beschriebenen, weshalb ich sie hier nicht mehr besonders anführe.

Unter den Fäulnissproducten erhielt ich, wie im vorigen Versuche, wenig Indol, kein Phenol, dagegen viel Leucin und 4.6 g reines Tyrosin, ausserdem Peptone, flüchtige Fettsäuren und Ammoniak.

Auffallend in diesen beiden Versuchen ist die grosse Resistenz des Hämoglobins, das auch nach monatlicher Fäulniss an der Luft bei 40° C. zum Theil unverändert blieb. Bemerkenswerth ist ferner, dass nach so langer Fäulniss noch Tyrosin und zwar in reichlichen Mengen erhalten wurde. Aus allen bis jetzt untersuchten Eiweisskörpern, die bei ihrer Hydratation Tyrosin liefern, wurde nach so langer Fäulniss nicht mehr Tyrosin, sondern nur Phenol erhalten. Auch dieser Umstand spricht für einen sehr langsamen Verlauf der Fäulniss und der Grund hierfür ist jedenfalls in den Bestandtheilen der Blutkörperchen zu suchen.

Folgender Versuch, wo ich nicht Blutkörperchen, sondern Blut verfaulen liess, spricht auch für diese Annahme.

3. Versuch. September 24. Nachmittags 3 Uhr werden etwa 3 Liter frischen defibrinirten Ochsenblutes bei gewöhnlicher Temperatur aufgestellt und dazu 5.0 g frischen Ochsenpankreas gebracht. Das Gefäss wurde mit einem lose schliessenden Deckel zugedeckt, der Staub und ähnliche Verunreinigungen von der Flüssigkeit abhalten sollte.

September 25. Schon leichter Fäulnissgeruch, sonst keine besonderen Veränderungen, als dass auf der Oberfläche der Flüssigkeit eine dunkelbraune, dickliche Schicht sich findet. Die mikroskopische Untersuchung constatirt zunächst, dass die Blutkörperchen noch wenig verändert sind. Von Mikroorganismen finden sich besonders reichlich kleinste Kügelchen, meist in Torulaform angeordnet, dann sehr kleine lebhaft sich bewegende Stäbchen und endlich sehr zahlreiche feinkörnige Zooglöamassen.

September 26. Keine wesentlichen Veränderungen.

September 27. Nur spärliche Blutkörperchen, meist die Maulbeerform darbietend, sind noch vorhanden. Etwa zur Hälfte finden sich im Gesichtsfelde des Mikroskopes Coccen in einfacher Form und Diplococcus; nebstdem aber sind reichliche Bacillen zu constatiren und zwar sowohl ganz kleine und dünne, etwa 1.7 Mikrom. lang, als auch schon bis 8 Mikrom. lange, die theils vereinzelt vorkommen, theils Reihen darzustellen scheinen, indem sie mehrfach winkelig abgeknickt erscheinen. — Der Geruch der Flüssigkeit ist ein deutlich ammoniakalischer.

September 29. Blutkörperchen sind keine mehr zu finden. Die Bacillen haben sich beträchtlich vermehrt, sind dabei sehr lang und relativ dick (8 bis 10 Mikrom. lang und 0.8 bis 1 Mikrom. breit): sie zeigen lebhaft schlängelnde Bewegung. Coccen sind noch etwa zu einem Viertheil im Gesichtsfelde sichtbar, meist in einfacher Form. — Der Geruch der Flüssigkeit ist ein sehr intensiver, erinnert an Indol.

Bis zum 7. November wurde das Blut sich selbst überlassen, dabei allerdings glich wegen event. Veränderungen nachgesehen, besonders auch bezüglich der ikroorganismen. Mikroskopisch waren die Veränderungen während der langen it minim. Der Geruch bestand in nahezu gleicher Intensität fort. Eigenthüm-he Veränderungen aber zeigten die Mikroorganismen: Der oben notirte Befund m 29. September wurde die folgenden Tage dadurch modificirt, dass die Coccen mer spärlicher wurden, die Bacillen dagegen continuirliche Zunahme zeigten bis n 5. October, wo die Bacillen einzig in der Flüssigkeit zu finden waren, meist in a schon oben angegebenen Grössen, alle lebhaft schlängelnde Bewegungen dar-tend. Von da ab jedoch kamen successive wieder mehr Coccen zum Vorschein, Bacillen dagegen wurden kleiner, besonders auffällig dünn und waren etwas niger beweglich. Am 16. October konnte ich wieder zu gleichen Theilen meist fache Coccen und Streptococcus finden mit relativ kleinen und dünnen Stäbchen, ziemlich lebhaft beweglich.

Am 7. November, wo die Flüssigkeit destillirt werden sollte, wurde sie noch-ls genau untersucht. Sie war intensiv braunschwarz gefärbt, theilte sich in eine az dünne Deckschicht, die in kleinen häutigen Fetzen sich abheben liess, in die entliche Flüssigkeit und in einen reichlichen schlammigen Bodensatz von gleicher rbe wie die Flüssigkeit. Der Geruch war ein intensiver, erinnerte an den normaler ces. Das Spectrum der Flüssigkeit ergab noch deutlich die beiden charakte-tischen Hämoglobinstreifen. Die mikroskopische Untersuchung constatirte bloss tritusmassen, keine Krystalle. Die Fäulnissorganismen bestanden überwiegend s Coccen und nur vereinzelten kleinen, unbeweglichen Bacillen.

Die chemische Untersuchung dieser Flüssigkeit ergab in grossen Mengen Indol id Phenol, kein Tyrosin, wenig Leucin, dagegen reichlich flüssige Fettsäuren und mmoniak neben Peptonen.

Aus dem Fehlen des Tyrosins, sowie aus der reichlichen Menge Indol und henol ergiebt es sich, dass das Blut in den Spaltungsproducten eine viel tiefer fort-schrittene Fäulniss zeigt und zwar schon bei gewöhnlicher Temperatur, als wie e Blutkörperchen oder eigentlich das Hämoglobin derselben. Nach alledem ist is Hämoglobin als eine den Fäulnissorganismen gegenüber sehr 'ständige Substanz zu erachten [1]).

Werfen wir einen Rückblick auf diese Versuche, so geht aus denselben hervor, ss die Fäulniss des Blutes sowohl bei gewöhnlicher Temperatur als bei einer lchen von 40° C. vor sich geht, bei letzterer jedoch bedeutend rapider.

Die Blutkörperchen selbst scheinen der Fäulniss nicht lange Widerstand zu isten. In dem 3. Versuche, der mit gewöhnlichem Ochsenblut angestellt orden, waren sie allerdings erst am 5. Tage verschwunden, zeigten übrigens ich schon am 3. eine merkbare Verminderung. Bei dem 2. Versuche waren

[1]) Nachdem diese Untersuchungen bereits abgeschlossen waren, fand ich in dem eben rschienenen 3. Hefte Band 1 der Zeitschrift für physiologische Chemie, S. 121 eine Mit-heilung von Hoppe-Seyler über die Eigenschaften des Blutfarbstoffes, der in Bezug auf die Resistenzfähigkeit des Hämoglobins gegen die Fäulnissorganismen zu ähnlichen Resultaten gelangte.

sie am 3. Tage schon nicht mehr zu constatiren. Jedenfalls werden sie zunächst in Stromata und Hämoglobin gespalten. Das Hämoglobin geht in Lösung und wird sehr allmählich in Eiweiss und Hämatin verwandelt. Während auf der Oberfläche der Flüssigkeit Hämatin in amorphen rothbraunen Krusten sich absetzt, enthält die Flüssigkeit noch die längste Zeit Hämoglobin in Lösung, so zwar, dass bei jedem Versuche zur Zeit der Destillation die Flüssigkeit noch ein schwaches Hämoglobinspectrum gab, bei I. nach 16, bei II. nach 29 und bei III. nach 44 Tagen.

Was die Mikroorganismen betrifft, so möchte ich vor Allem darauf aufmerksam machen, dass bei allen Versuchen zu einer gewissen Zeit der Bacillus subtilis einzig die Situation beherrschte, dass vor- und nachher hingegen Coccen neben Bacillen sich fanden. Ich werde in einer folgenden Arbeit Ausführliches hierüber berichten. Besonders interessant scheint mir der 2. Versuch zu sein, indem hier zum Versuchsobjecte keine bacterienhaltige Substanz, z. B. Pankreas, zugefügt worden, vielmehr die Mikroorganismen resp. deren Keime nur durch die Luft hinzugekommen sein können. Auffällig ist es aber, dass gleichwohl so ziemlich dieselben Formen zu entsprechenden Zeiten constatirt werden konnten, wie bei den übrigen Versuchen, wo stets Pankreas zugesetzt worden. Zu berücksichtigen ist zwar hierbei, dass die Luft des Laboratoriums mit Bacterien resp. deren Keimen wohl vollauf geschwängert war.

---

# Ueber die Zersetzung des Eiweisses durch schmelzendes Kali

von

**M. Nencki.**

Journ. prakt. Chem. 17, [illegible]

Veranlasst durch meine Untersuchungen über die Bildung des Indols aus Eiweiss, veröffentlichte vor einiger Zeit W. Kühne[1]) in den Berliner Berichten se[illegible]ine Wahrnehmungen über diese Substanz. Ausgehend von der Beobachtung Bopp'[illegible]s[2]), dass beim Schmelzen von Albuminstoffen mit Aetzkali ein wie Fäces riechen[illegible] der und in seinem Verhalten mit dem bei der Caseïnfäulniss erhaltenen, übereinsti[illegible]m-mender Körper auftrete, wiederholte Kühne diese Versuche, nur mit dem Unt[illegible]er-schiede, dass, statt wie Bopp gleiche Theile Aetzkali und Eiweiss zu schmelz[illegible]en, er mindestens das achtfache Gewicht des letzteren genommen und die Schme[illegible]lze sehr allmählich in eisernen Schalen bis zur dunkeln Rothgluth erhitzte. Küh[illegible]ne giebt an, dabei einen Körper erhalten zu haben, der, mit Ausnahme des Schme[illegible]lz-punktes, in allen seinen Eigenschaften mit dem Indol übereinstimmte, weshalb a[illegible] uch

[1]) Ber. 8, 206.

[2]) Ann. Chem. Pharm. 69, 31.

Kühne die Identität seines Indols mit dem von Baeyer aus Indigblau erhaltenen als noch fraglich hinstellte. Die Versuche Kühne's haben C. Engler und Janecke[1]) wiederholt. Die genannten Autoren operirten genau nach der Vorschrift Kühne's, nur trieben sie die Erhitzung immer so weit, bis sich in dem oberen Theile des Entbindungsrohres braune Oeltröpfchen zeigten. Alsdann liess man erkalten, versetzte mit etwas Wasser und destillirte nochmals in derselben Weise und so lange immer wieder, als sich in dem Kühlrohr noch krystallinische Ansätze bildeten, was jedesmal nach etwa fünftägigem Erhitzen ein Ende nahm. Engler und Janecke geben an, auf diese Weise bei Anwendung von Blutalbumin etwa 0.2 Proc. Indol erhalten zu haben in Form krystallinischer Blättchen, die den äusserst charakteristischen Indolgeruch zeigten, und deren Lösung einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspan roth färbte und nach Zusatz von rauchender Salpetersäure einen reichlichen Niederschlag der von mir analysirten und als salpetersaures Nitrosoindol bezeichneten Verbindung lieferte.

Während das Indigindol bei 52° schmilzt, fängt nach Engler und Janecke ein kleiner Theil der aus Eiweiss mit Kali gewonnenen, nur einmal aus Wasser ausgeschiedenen Krystalle zwar etwas über 50° zu schmelzen an, die Hauptmenge schmilzt jedoch erst über 70°. Krystallisirt man mehrmals aus heissem Wasser um, so geht der Schmelzpunkt in die Höhe und wird erst bei 85 bis 86° — nach Kühne bei 89 bis 91° — constant. Am Geruch und den übrigen äusseren Eigenschaften der krystallinischen Blättchen bemerkten die Verfasser jedoch keine Veränderung.

Die Analysen dieses Productes ergaben 81.22 bis 82.06 Proc. C, 6.46 bis 7.09 Proc. H und 10.56 bis 11.48 Proc. N. Die Formel des Indols $C_8H_7N$ verlangt: 82.05 Proc. C, 5.98 Proc. H und 11.97 Proc. N.

Das Dampfvolumen dieses Körpers verhielt sich ceteris paribus zum Dampfvolumen des Indols wie 0.9 : 1. Aus diesen Gründen, sowie deshalb, dass das aus der Kalischmelze erhaltene Product mit ozonisirter Luft oxydirt kein Indigblau liefert, betrachten Engler und Janecke die von ihnen untersuchte Substanz als eine dem Indol isomere Verbindung, und, indem sie das Indol als ein Biderivat des Benzols und zwar der Orthoreihe auffassen, vermuthen sie, dass ihre Substanz — das Pseudoindol — der Parareihe angehört.

Ich werde nun im Folgenden zeigen, dass sowohl die von Kühne als auch von Engler und Janecke durch Schmelzen von Eiweiss mit Kali erhaltene und von den Letzteren als Pseudoindol bezeichnete Substanz kein einheitliches Product, sondern ein Gemenge von Indol und der von Herrn Brieger in meinem Laboratorium aus den Fäces erhaltenen und als Skatol bezeichneten Verbindung ist.

Gelegentlich einer Untersuchung, die Herr Dr. Secretan[2]) im hiesigen Laboratorium über die vermuthliche Umwandlung von Eiweiss in Fett ausführte, fand er nach sechsmonatlicher Fäulniss von Eiereiweiss in Wasser eine unangenehm nach Fäces riechende Substanz, die bei 85 bis 91° schmolz und in ihrem übrigen Ver-

[1]) Ber. **9**. 1411.

[2]) Archives des sciences de la bibliothèque universelle. Genève 1876. Février. — Dieser Band S. 216.

halten dem Indol sehr ähnlich war. Ein charakteristischer Unterschied bestand aber darin, dass einige Tropfen rauchender Salpetersäure in ihrer gesättigten wässerigen Lösung keinen rothen Niederschlag, sondern nur eine schwach weissliche Trübung erzeugten. Seither habe ich gesehen, dass die von Secretan erhaltene Substanz mit der von Dr. Brieger aus Fäces erhaltenen identisch war. Es lag daher der Gedanke nahe, dass das Pseudoindol vielleicht nichts anderes, als die von Secretan und Brieger erhaltene Substanz ist. Um mir darüber Aufklärung zu verschaffen, sowie überhaupt die Zersetzung des Albumins durch schmelzendes Kali genauer kennen zu lernen, habe ich diese Reaction einer wiederholten Prüfung unterworfen.

Ich verfuhr zunächst genau wie Engler und Janecke. Auf eine gusseiserne halbrunde Schale wurde ein conisch sich verjüngender Eisenblechhelm mittelst Thon aufgekittet, der Apparat mit 25 oder 50 g Eiweiss (käufliches Blut- oder Eiereiweiss) und der zehnfachen Menge Kali beschickt, sodann mit einem Kühlrohr verbunden und sehr allmählich erhitzt. Nach fünf- bis sechsstündigem Erhitzen, wenn nichts mehr überging, liess man erkalten, befeuchtete die Schmelze von Neuem mit Wasser und erhitzte von Neuem, und zwar so lange, als in einer Probe des Destillates durch einen Tropfen rauchender Salpetersäure rothe Färbung hervorgebracht wurde. Um aus den vereinigten Destillaten das Pseudoindol zu erhalten, verfuhr ich Anfangs nach den Angaben von Engler und Janecke. Später habe ich es vorgezogen, die mit Salzsäure übersättigten Destillate mit Pikrinsäure zu fällen, nachdem ich die Beobachtung machte, dass sowohl Indol wie Skatol aus wässeriger, mit Salzsäure angesäuerter Lösung durch Pikrinsäure in Form einer in rothen Nadeln krystallisirenden Pikrinsäureverbindung gefällt werden. Durch Destillation der letzteren mit wässerigem Ammoniak verflüchtigt sich das Indol und Skatol und scheidet in der Vorlage krystallinisch aus. Im Allgemeinen habe ich die Wahrnehmungen meiner Vorgänger bestätigt. Sobald die Einwirkung beginnt, findet lebhafte Ammoniakentwickelung statt, sodann lässt das Schäumen nach, wird kleinblasig, die Schmelze hellt sich auf und jetzt wird hauptsächlich Wasserstoff entwickelt und das übergehende Destillat giebt mit rauchender Salpetersäure die verhältnissmässig stärkste Indolreaction. Sehr bald erkannte ich jedoch, dass das als Pseudoindol bezeichnete Product nur ein Gemisch von Indol und Skatol ist. Es genügt meistens, falls man die Vorschrift von Engler und Janecke befolgte, nur einmal das Product aus heissem Wasser umzukrystallisiren, um es ganz indolfrei zu erhalten. Während die wässerige Lösung des Rohproductes mit einigen Tropfen rauchender Salpetersäure versetzt einen starken rothen Niederschlag gab und auch manchmal die Mutterlauge von der ersten Krystallisation das gleiche Verhalten zeigte, erwiesen sich die von der Lauge abfiltrirten Krystalle durch den Geruch und alle übrigen Reactionen als reines Skatol. Den Schmelzpunkt der so erhaltenen Krystalle habe ich zum wiederholten Male, auch nach zwei- und dreimaligem Umkrystallisiren, bei 93.5° gefunden. Wurden die Krystalle in Wasser gelöst, so gab die Lösung mit einigen Tropfen rauchender Salpetersäure versetzt gar keinen rothen Niederschlag, sondern nur eine weissliche Trübung, genau wie das von Brieger aus den Fäces erhaltene Skatol. Auch der fäcale Geruch dieser Substanz, der ganz von dem des Indols verschieden ist, lässt keinen Zweifel übrig, dass dieser Körper mit dem

Brieger'schen Skatol identisch ist. Wie meine Vorgänger finden konnten, dass beim Schmelzen von Eiweiss mit Kali ein nur nach Indol riechendes Destillat erhalten werden kann, ist mir unverständlich. Ebenso auffallend ist es, dass die so charakteristische Reaction des Skatols, im Vergleiche zu Indol mit rauchender Salpetersäure, von ihnen übersehen wurde. Wie aus der Darstellung des Skatols von Brieger hervorgeht, ist das Indol in Wasser leichter löslich und kann daher das Skatol von dem ersteren durch wiederholtes Umkrystallisiren leicht getrennt werden. Zweifellos entsteht beim Schmelzen von Eiweiss mit Kali in geringer Menge sowohl Indol als Skatol, wie dies aus dem Verhalten des Rohproductes hervorgeht — erniedrigter Schmelzpunkt und rothe Niederschläge der wässerigen Lösung des Rohproductes mit rauchender Salpetersäure. — Durch wiederholtes Umkrystallisiren kann jedoch das Skatol frei von Indol erhalten werden. Bemerken muss ich aber, dass ich, trotz vielfach variirter Versuche, nie so hohe Ausbeute wie Engler und Janecke — 0.25 Proc. — erzielte, und da das Umkrystallisiren von Skatol, um es frei von Indol zu erhalten, mit beträchtlichen Verlusten verbunden ist, so musste ich die Hoffnung, Skatol durch Schmelzen von Eiweiss mit Kali in für Analysen hinreichender Menge zu erhalten, aufgeben.

Ausser Indol und Skatol entstehen in geringer Menge ölige Producte, die ich nicht näher charakterisiren konnte, und auch Pyrrol, namentlich wenn die Schmelze gleich zu Anfang stärker erhitzt wurde. Man kann mit Leichtigkeit minimale Mengen Pyrrol in wässeriger Lösung entdecken, wenn dieselbe mit einigen Tropfen rauchender Salpetersäure zersetzt wird, oder auch durch minimale Menge von salpetrigsaurem Kalium und Ansäuern der Flüssigkeit. Sofort färbt sich die Flüssigkeit dunkelbraun und es entsteht ein amorpher schwarzer Niederschlag, der in verdünnten Alkalien mit brauner Farbe löslich ist. Auch Pikrinsäure giebt mit Pyrrol eine schön krystallisirende Verbindung, doch ist die letztere in Wasser leichter löslich, als wie die des Indols und Skatols.

Um die Pyrrolbildung zu vermeiden, sowie auch, um die an Kali gebundenen Producte aus dem Eiweiss näher kennen zu lernen und schliesslich in der Hoffnung, durch bessere Handhabung der Temperatur der Schmelze die Ausbeute an Skatol zu erhöhen und es vielleicht so in für die Analysen hinreichender Menge erhalten zu können, habe ich versucht, die Schmelze statt über freiem Feuer, im Oelbade in starken Glaskolben von 2 bis 3 Liter Inhalt zu erhitzen. Die meisten Kolben sind mir dabei nach ein- bis zweitägiger Erhitzung geplatzt, doch blieb in einem Versuche, wo ich die Erhitzung so weit trieb, bis in das Destillat kein Skatol oder Indol mehr überging, der Kolben unversehrt. Die Untersuchung der flüchtigen, sowie an Kali gebundenen Spaltungsproducte ergab folgendes Resultat:

50 g käufliches Eiereiweiss, entsprechend 40.2 g wasser- und aschefreier Substanz, wurden mit 500 g Aetzkali in einem Glaskolben mit vorgelegtem Kühler im Oelbade erhitzt. Als die Temperatur des Bades 230° erreichte, begann die Einwirkung. Die Schmelze wurde braun, schäumte stark und entwickelte massenhaft Ammoniak. Nach etwa einer Stunde liess das Schäumen sehr nach und wurde kleinblasig. Das Erhitzen wurde so lange fortgesetzt, als noch Wasser, das milchig getrübt war, überging — etwa fünf Stunden. Während der ganzen Zeit schwankte

die Temperatur des Oelbades zwischen 260 bis 290°. Hierauf liess ich erkalten, befeuchtete die Schmelze mit 15 ccm Wasser und erhitzte am folgenden Tage auf 260 bis 290° von Neuem und zwar so lange, bis kein Wasser mehr überdestillirte. Diese Operation wurde bis zum fünften Tage wiederholt, wo eine Probe des Destillates, mit Salzsäure angesäuert und mit Pikrinsäure versetzt, keinen Niederschlag mehr gab. Die vereinten Destillate wurden nunmehr mit Salzsäure stark übersättigt und mit heisser wässeriger Pikrinsäure versetzt. Der entstandene, aus rothen mikroskopischen Nadeln bestehende Niederschlag wog nach dem Trocknen über $SO_4H_2$ 1.2 g. Hierauf wurde er aus einer kleinen Retorte mit wenig Ammoniak destillirt. Aus dem Destillate schieden sich nach mehrstündigem Stehen 0.048 g Skatol aus. Die davon filtrirte Lauge gab mit rauchender Salpetersäure einen starken Niederschlag. Das erhaltene Skatol, noch einmal aus Wasser umkrystallisirt, war völlig indolfrei und schmolz im capillaren Röhrchen zwischen 93 bis 94°. Der Kolbenrückstand wurde in Wasser gelöst und in eine tubulirte Retorte filtrirt, hierauf mit verdünnter Schwefelsäure (500 g conc. $SO_4H_2$ in 2000 g $H_2O$ gelöst) versetzt und destillirt. Das stark saure Destillat, das einen widrigen fäcalen Geruch hatte, war milchig getrübt und setzte beim Stehen einen gelben Niederschlag ab, wovon abfiltrirt wurde. Der Niederschlag erwies sich als Schwefel, offenbar vom Schwefelkalium der Schmelze herrührend. In dem filtrirten Destillat, dessen Menge 2400 ccm betrug, wurde zunächst der Säuregrad mit normaler Aetzbarytlösung, w[illegible] von 10 ccm 0.06799 g Essigsäure zur Neutralisation brauchten, bestimmt, hierauf die Gesammtmenge mit Natronlauge genau neutralisirt und mit Aether ausgeschüttelt. Nach dem Abdestilliren des Aethers wurde der aus dem ätherischen Auszuge erhaltene Rückstand in eine kleine Retorte gebracht und so lange mit verdünnter $SO_4H_2$ destillirt, bis das Destillat mit Bromwasser keine milchige Trübung mehr zeigte. Das Destillat, das den charakteristischen Phenolgeruch hatte, wurde durch Eisenchlorid blauviolett gefärbt und gab mit Bromwasser gleich einen starken Niederschlag von Tribromphenol. Aus 185 ccm des Destillates erhielt ich 0.1248 g Tribromphenol, was auf die Gesammtmenge des Destillats, 225 ccm, 0.152 g Tribromphenol oder 0.043 g Phenol entspricht.

Bemerken will ich, dass das erhaltene Tribromphenol nicht ganz rein war und erst durch Auflösen in verdünnter Kalilauge und Fällen mit Salzsäure rein erhalten wurde. Allem Anscheine nach rührt dies davon her, dass beim Schmelzen von Eiweiss mit Kalilauge, ähnlich wie bei der Fäulniss, ausser Phenol vielleicht etwas Kresol oder ähnliche, dem Phenol verwandte Verbindungen entstehen.

Das mit Aether ausgeschüttelte ursprüngliche Destillat enthielt nunmehr die flüchtigen Fettsäuren an Natron gebunden. Die Lösung wurde auf dem Wasserbade bis zum Syrup eingedampft, und da auch nach längerem Stehen kein essigsaures Natron krystallisirte, zersetzte ich das Natronsalz mit Schwefelsäure und nach dem Trocknen der abgeschiedenen öligen Fettsäuren über Chlorcalcium, dem eine Sp[illegible] Aetzbaryt zugesetzt war, unterwarf ich sie der fractionirten Destillation. Der Queck-silberfaden stieg rasch auf 150°, blieb einige Zeit bei 160° constant und die höch[illegible] siedende Fraction ging bei 170° über. Es ergiebt sich hieraus, dass die flüchtig[illegible] Fettsäuren fast nur aus normaler Buttersäure bestanden. Eine Silberbestimmung in [illegible]

bei 160 bis 163° übergegangenen Fraction ergab auch mit der Formel: $C_4H_7O_2Ag$ übereinstimmende Zahlen (gef. 55.07 Proc. Ag, ber. 55.37 Proc. Ag). Wird der Säuregrad auf Buttersäure bezogen, so ergiebt dies für 40.2 g Eiweiss 14.36 g Buttersäure oder 35.7 Proc.

Der ursprüngliche Retortenrückstand, von welchem die flüchtigen Fettsäuren abdestillirt wurden, wurde auf dem Wasserbade concentrirt, woraus sich beim Erkalten ein grosser Theil des schwefelsauren Kaliums abgeschieden hat. Nachdem noch die überschüssige Schwefelsäure durch Baryt abgestumpft wurde, habe ich beim Eindampfen des Filtrats bis zur syrupösen Consistenz noch 1.4 g rohes Leucin erhalten, kein Tyrosin. Der nach Auskrystallisiren des Leucins in minimaler Menge hinterbliebene peptonartige Rückstand gab mit Millon'schem Reagens noch die Proteïnreaction.

Betrachtet man nun das Resultat dieser Untersuchung und vergleicht es namentlich mit den älteren Arbeiten von Mulder „Ueber die Einwirkung verdünnter Kalilauge auf Eiweiss" und von Bopp „Ueber die Einwirkung des schmelzenden Kalis", so ergiebt sich, dass in erster Instanz das Eiweiss durch Hydratation mittelst verdünnter Kalilauge in lösliche, peptonartige Materien übergeht — die Proteïnoxyde Mulder's. Schmelzendes Kalihydrat bildet aus Eiweiss neben Peptonen Leucin und Tyrosin, und durch weitere Einwirkung unter Wasserstoffentwickelung flüchtige Fettsäuren, vorwiegend Valeriansäure. Gleichzeitig treten Indol und Skatol auf. Wird das Schmelzen lange fortgesetzt, so verringert sich die Menge der peptonartigen Materien; auch das Leucin und Valeriansäure werden allmählich in Buttersäure übergeführt. Das Tyrosin wird völlig zersetzt und statt dessen tritt Phenol auf. Ich zweifle nicht daran, dass das sowohl bei der Kalischmelze, sowie bei der Fäulniss des Eiweisses auftretende Phenol aus dem Tyrosin entsteht. Immer, wo ich bei der Fäulniss oder bei der Kalischmelze Phenol erhielt, fehlte das Tyrosin, und umgekehrt, wie dies namentlich aus den Versuchen des Herrn Kaufmann ersichtlich ist. Die Kalischmelze, wie die Fäulniss, wirkt nur in der ersten Phase auf Eiweiss durch Hydratation. Mit der Wasserstoffentwickelung treten sowohl Oxydations- wie Reductionsproducte auf. Da nun bisher alle bei der Fäulniss isolirten Producte auch durch schmelzendes Kali aus dem Eiweiss gebildet werden und auch die einzelnen Phasen [1]) der Fäulniss durch die Einwirkung von Kali auf Eiweiss nachgeahmt werden können, so wird eine genaue Betrachtung des Vorganges, nach welchem Eiweiss durch schmelzendes Kali zersetzt wird, uns Aufklärung über den chemischen Modus, nach welchem die Fäulnissorganismen das Eiweiss zersetzen, verschaffen müssen. Es soll dies der Gegenstand der folgenden Abhandlung sein.

---

[1]) Vgl. meine Arbeit „Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas". Bern 1876. S. 33 u. f. — Dieser Band S. 206 u. f.

# Ueber den chemischen Mechanismus der Fäulniss

von

**M. Nencki.**

Journ. prakt. Chem. 17, 105.

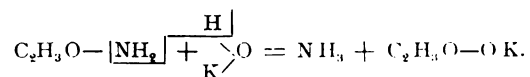
Betrachtet man den Vorgang, nach welchem einfache und complexe Amide, Amidosäuren, einfache und complexe Aether, Anhydride, Glucoside u. s. w., mit verdünnten Mineralsäuren oder Alkalien gekocht, in ihre Componenten zerfallen, so wird man finden, dass die Spaltung der oben genannten Verbindungen durch Säuren stets unter Mitwirkung von Wasser geschieht, dass also an allen diesen Reactionen das Wasser einen wesentlichen Antheil hat. Auch die Zersetzung solcher Verbindungen durch Alkalien wird erst dann verständlich, wenn man die Alkalihydrate sich als Wasser denkt, in welchem ein Wasserstoff durch Kalium, Natrium, Baryum usw. ersetzt ist. In neuerer Zeit werden daher häufig verdünnte Säuren oder Alkalien, insofern man von ihnen als chemischen Reagentien spricht, Hydratationsagentien genannt und die durch sie bewirkte Zersetzung organischer Verbindung als Zersetzung durch Hydratation bezeichnet.

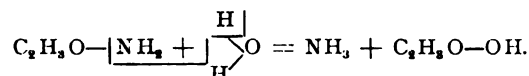
In vielen Fällen, je nach der Natur der betreffenden Substanz, geschieht diese Hydratation auch durch Kochen in Wasser allein; vorzüglich aber, wenn die oben bezeichneten Substanzen mit Wasser unter Druck und bei Temperaturen über 100° erhitzt werden.

Wenn organische Verbindungen durch Hydratation mittelst Säuren, Alkalien oder auch Wasser allein zerlegt werden, so sind zwei Fälle denkbar:

1. Entweder zerfällt das Wasser geradeauf in Wasserstoff und Sauerstoff $H_2O = H_2 + O$, oder
2. das Wasser zerfällt in Wasserstoff und Hydroxyl, $H_2O = H + HO$.

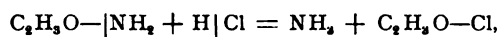
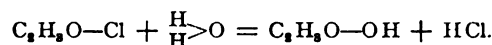
Aller Wahrscheinlichkeit nach findet in allen Hydratationsvorgängen nur der zweite Fall statt und ich werde im Folgenden zeigen, dass auch die Oxydationen und Reductionen, wie sie bei der Fäulniss oder beim Schmelzen organischer Verbindungen mit Kalihydrat auftreten, sich sehr einfach erklären lassen durch die Annahme, dass dabei das Wasser oder Kalihydrat in H + OH, resp. H + KO zerfallen. — Wird z. B. Acetamid mit verdünnter Kalilauge gekocht, so entsteht essigsaures Kalium und Ammoniak, indem der Wasserstoff des Kalihydrats an die Amidogruppe des Acetamids herantritt und der KO-Rest mit dem Acetyl sich zu essigsaurem Kalium vereinigt — nach der Gleichung:

$$C_2H_3O-\boxed{NH_2} + \genfrac{}{}{0pt}{}{H}{K}\!\!>\!O = NH_3 + C_2H_3O-OK.$$

Die gleiche Zersetzung durch Erhitzen mit Wasser allein beruht auf gleicher Reaction:

$$C_2H_3O-|NH_2 + \overset{H|}{\underset{H}{}}>O = NH_3 + C_2H_3O-OH.$$

Kocht man Acetamid mit Salzsäure, so entsteht ebenfalls Essigsäure und Ammoniak. Der Vorgang aber verläuft hier in zwei Phasen, in der ersten:

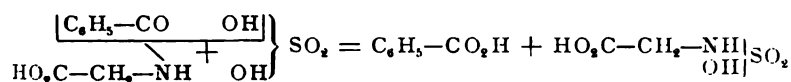
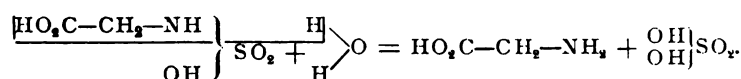
$$C_2H_3O-|NH_2 + H|Cl = NH_3 + C_2H_3O-Cl,$$

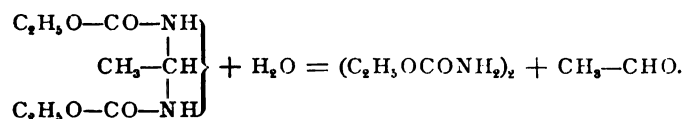
und in der zweiten Phase:

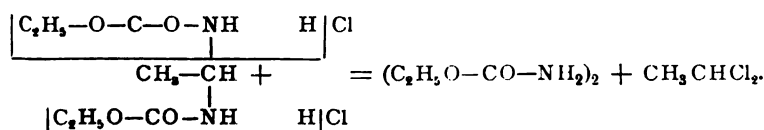
$$C_2H_3O-Cl + {}^{H}_{H}{>}O = C_2H_3O-OH + HCl.$$

Die Hydratation durch Säuren beruht in letzter Instanz auf ähnlichem Vorgange wie die durch Alkalien; nur tritt hier das Wasser erst mittelbar — erst in der zweiten Phase — in Reaction. Wie in vorliegendem Falle entsteht zunächst Chloracetyl und Ammoniak. Das erstere aber setzt sich sofort mit Wasser zu Essigsäure und Salzsäure um, so dass das Zwischenproduct, das Chloracetyl, nicht erhalten wird. Aehnlich denke ich mir die Hydratation durch andere Mineralsäuren, z. B. die Spaltung der Hippursäure in Glycocoll und Benzoësäure beim Kochen in verdünnter Schwefelsäure:

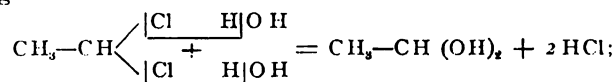
$$\left.\begin{matrix} |C_6H_5-CO \quad OH| \\ \diagdown \quad + \\ HO_2C-CH_2-NH \quad OH \end{matrix}\right\} SO_2 = C_6H_5-CO_2H + HO_2C-CH_2-\begin{matrix}NH| \\ OH|\end{matrix}SO_2$$

und in der zweiten Phase:

$$\left.\begin{matrix} |HO_2C-CH_2-NH \\ OH \end{matrix}\right\} SO_2 + \overset{H|}{\underset{H}{}}>O = HO_2C-CH_2-NH_2 + \begin{matrix}OH| \\ OH|\end{matrix}SO_2.$$

Ich halte dafür, dass bei den Hydratationsprocessen das Wasser in H und OH und nicht in $H_2$ und O zerfällt, also auch in den Fällen, wo man nach der empirischen Gleichung die Spaltung in $H_2 + O$ annehmen sollte. So lässt sich z. B. der Zerfall der so zahlreichen aldehydischen Condensationsproducte durch Aufnahme von Wasser beim Kochen mit verdünnten Säuren von diesem Gesichtspunkte aus sehr einfach erklären. Aethylidenurethan, mit verdünnter Mineralsäure erwärmt, zerfällt rasch in Urethan und Aldehyd. Empirisch wird diese Zersetzung durch folgende Gleichung ausgedrückt:

$$\left.\begin{matrix} C_2H_5O-CO-NH \\ | \\ CH_3-CH \\ | \\ C_2H_5O-CO-NH \end{matrix}\right\} + H_2O = (C_2H_5OCONH_2)_2 + CH_3-CHO.$$

Richtiger wird jedoch diese Zersetzung auf folgende Weise ausgedrückt:

$$\begin{matrix} |C_2H_5-O-C-O-NH \quad H|Cl \\ | \\ CH_3-CH + \\ | \\ |C_2H_5O-CO-NH \quad H|Cl \end{matrix} = (C_2H_5O-CO-NH_2)_2 + CH_3CHCl_2.$$

Das Aethylidenchlorid im status nascens reagirt aber sofort mit Wasser nach der Gleichung:

$$CH_3-CH\begin{cases} Cl \quad H|OH \\ \quad + \\ Cl \quad H|OH \end{cases} = CH_3-CH\,(OH)_2 + 2\,HCl;$$

denn wir haben allen Grund, anzunehmen, dass Aldehyd im Wasser als Hydrat (Dioxyäthyliden) gelöst ist und das letztere erst bei der Destillation in Aldehyd und Wasser zerfällt.

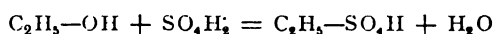
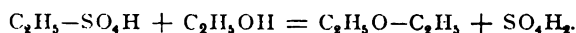
Der Grund, weshalb Säuren oder Alkalien complexere organische Verbindungen in einfachere spalten, liegt jedenfalls in ihrer grösseren Affinität zu den einzelnen Componenten der complexeren Substanz, welche allerdings durch Temperatur, Concentration und andere Umstände, deren genaue Präcisirung jetzt kaum möglich ist, beeinflusst wird. So spaltet Kalihydrat das Acetamid, weil die Anziehungskraft des KO zu $C_2H_3O$ grösser ist, als wie die zu H. Nur so ist es verständlich, dass die gleichen verdünnten Mineralsäuren, die bei der Hydratation Wasseraufnahme bewirken, in anderen Fällen, wie z. B. bei Aetherbildung, Wasseraustritt veranlassen.

Im Falle die bei der Hydratation entstehenden Spaltungsproducte einen sauren oder basischen Charakter haben, werden sie durch das Alkali resp. Säure neutralisirt. Hippursäure und Salzsäure gekocht giebt Benzoësäure und Salmiak, Harnstoff mit Kalihydrat kohlensaures Kalium und Ammoniak. In diesen Fällen ist zur völligen Spaltung mehr als die äquivalente Menge des Hydratationsmittels nöthig. Entstehen aber, wie in dem oben angeführten Beispiele, vom Aethylidenurethan Spaltungsproducte, welche weder saure noch basische Eigenschaften besitzen, so kann, theoretisch angenommen, eine geringere Menge der Mineralsäure eine unbegrenzt grosse Menge Aethylidenurethan spalten, da die Säure immer von Neuem frei wird.

Es ist dies ein ähnlicher Vorgang wie die Aetherbildung beim Kochen von Alkohol mit verdünnter Schwefelsäure:

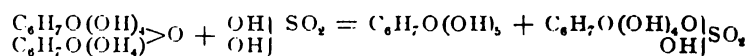
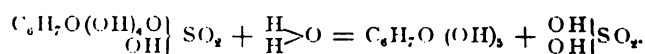
$$C_2H_5-OH + SO_4H_2 = C_2H_5-SO_4H + H_2O$$

und

$$C_2H_5-SO_4H + C_2H_5OH = C_2H_5O-C_2H_5 + SO_4H_2.$$

Auch hier könnte, theoretisch genommen, eine geringe Menge Säure unbegrenzte Mengen Alkohol in Aether überführen. Der Unterschied ist nun der, dass bei der Aetherbildung Wasser auftritt, bei den Hydratationen durch verdünnte Säuren Wasser aufgenommen wird. Nur so ist es übrigens verständlich, dass geringe Mengen verdünnter Säure grosse Quantitäten Stärke, Dextrin und Rohrzucker, die in gar keinem äquivalenten Verhältniss zu der Säuremenge stehen, in Dextrose resp. Dextrose und Lävulose überführen. Der chemische Mechanismus aber, nach welchem Rohrzucker oder Hippursäure durch Säuren gespalten werden, ist immer der gleiche:

$$\begin{matrix} C_6H_7O(OH)_4 \\ C_6H_7O(OH_4) \end{matrix}\!\!>O + \begin{matrix} OH \\ OH \end{matrix}\Big|\,SO_2 = C_6H_7O(OH)_5 + \begin{matrix} C_6H_7O(OH)_4O \\ OH \end{matrix}\Big|\,SO_2$$

und

$$\begin{matrix} C_6H_7O(OH)_4O \\ OH \end{matrix}\Big\}\,SO_2 + \begin{matrix} H \\ H \end{matrix}\!\!>O = C_6H_7O\,(OH)_5 + \begin{matrix} OH \\ OH \end{matrix}\Big|\,SO_2.$$

Bekanntlich wirken nun die löslichen oder ungeformten Fermente[1], wie das Emulsin, die Diastase, das Invertin der Hefe, das Pepsin, das Pankreatin und überhaupt die löslichen Fermente des Pflanzen- und Thierreichs auf organische Verbindungen genau wie die verdünnten Säuren; je nach ihrer Natur ist die Intensität und der Grad der durch sie bewirkten Hydratationen verschieden. So weit aber die Zersetzungen durch die löslichen Fermente genauer bekannt sind, tritt dabei stets Wasser in Reaction ein. Man könnte verschiedene Gleichungen, nach welchen die Zersetzungen durch die ungeformten Fermente vor sich gehen, leicht aufstellen. Sie würden aber alle das Gemeinschaftliche haben, dass das Ferment die Spaltung des Wassers in Wasserstoff und Hydroxyl vermittelt, und so lange die Hydratationsprocesse durch die ungeformten Fermente so wenig untersucht worden sind, wie bis jetzt, hat es keinen besonderen Werth, der einen oder der anderen Gleichung den Vorzug zu geben. Ich glaube jedoch, dass sorgfältigere Untersuchungen auf diesem Gebiete nicht erfolglos sein werden und über den Gang der dabei stattfindenden chemischen Reactionen Aufklärung verschaffen müssen. Allem Anscheine nach wirken die ungeformten Fermente so, dass als Endglieder der Reaction die Spaltungsproducte und wieder das ungeformte Ferment auftreten. Denn auch hier können z. B. unverhältnissmässig geringe Mengen Emulsin grosse Mengen Salicin in Zucker und Saligenin spalten. Selbstverständlich wird in der Wirklichkeit die theoretische Gleichung, wonach eine bestimmte Menge des löslichen Fermentes unbegrenzte Mengen der durch Ferment zersetzbaren Substanz spalten könnte, nie, oder vielleicht nur in den seltensten Fällen realisirt. Es treten stets Hindernisse, sei es durch Anhäufung der Spaltungsproducte, sei es durch veränderte Concentration der für die Zersetzung günstigen Lösung u. s. w. ein.

Dass durch die ungeformten Fermente Wasser so leicht und bei verhältnissmässig niedriger Temperatur in Wasserstoff und Hydroxyl zerfallen soll, ist keine unwahrscheinliche Annahme. Wie leicht zersetzt z. B. Rohrzucker schon bei Erwärmen mit Wasser das letztere in Wasserstoff und Hydroxyl, indem er selbst in Dextrose und Lävulose übergeht, und die einzelnen Atomgruppen im Molekül der ungeformten Fermente (die ja alle leicht zersetzbare Körper sind) stehen gewiss nicht in einer besonders festen chemischen Bindung zu einander.

So weit unsere Kenntniss der Zersetzung organischer Verbindungen durch ungeformte Fermente reicht, gehören sie alle in die Kategorie der Hydratationen. Producte, wie wir sie aus diesen Verbindungen durch Oxydations-, Reductions- und Condensationsagentien erhalten, treten dabei nicht auf. Das Emulsin spaltet das Amygdalin in Blausäure, Bittermandelöl und Zucker, das Salicin in Saligenin und Zucker. Die Diastase verwandelt Stärke in Dextrose. Die neuerdings von Gorup-Besanez aufgefundenen löslichen Fermente in den keimenden Wicken-, Hanf- und Leinsamen verwandeln Eiweiss in Peptone und wahrscheinlich auch krystalloide

[1]) In einer vor Kurzem erschienenen Abhandlung (Sonderabdruck aus den Untersuchungen des physiologischen Institutes in Heidelberg. Bd. I. Heft 3) schlägt Prof. Kühne vor, statt „lösliches Ferment" den Namen „Enzym" zu gebrauchen. Ich werde den Ausdruck „lösliches Ferment" beibehalten, da er mir passend zu sein scheint und sowohl in Frankreich wie in Deutschland eingebürgert ist.

Producte. Das Invertin, das lösliche Ferment der Hefe, ist auf Stärke ohne Ein wirkung und nur im Stande, Rohrzucker in Dextrose und Lävulose zu spalten. Da Ptyalin verwandelt Stärke in Dextrose, der Magensaft Eiweisssubstanzen in Peptone und die verhältnissmässig intensivsten löslichen Fermente der Bauchspeicheldrüs spalten Eiweiss in Peptone, Leucin und Tyrosin. Auch das von Musculus be schriebene ungeformte Ferment würde Harnstoff in Kohlensäure und Ammonial nach einer einfachen Hydratationsgleichung spalten.

Man ersieht, dass die durch die ungeformten Fermente bewirkten Hydrationen nicht einmal tiefgreifend sind. Schützenberger zeigte, dass Eiweiss durch fort gesetzte Hydratation mittelst Barythydrat vollkommen in krystalloïde Producte ge spalten werden kann. Ich zweifle daran, dass auch durch noch so lange Digestion z. B. mit dem löslichen Fermente des Pankreas, Eiweiss in nur krystalloïde Product umgewandelt werden könnte. Hoppe-Seyler hat beim Erhitzen von Trauben zucker mit Natron Milchsäure erhalten. Nach den Versuchen Schützenberger's entstehen aus Rohrzucker über 60 Proc. Milchsäure, wenn man denselben m Wasser und dem dreifachen Gewicht Barythydrat auf 150 bis 160° ungefähr Stunden lang erhitzt. Man kann also durch einfache Hydratation Zucker in Milch säure überführen. Ich werde auf diesen Process gelegentlich der Milchsäuregährung noch zurückkommen. Hier will ich nur bemerken, dass keins der bis jetzt be kannten löslichen Fermente im Stande ist, Zucker in Milchsäure zu verwandeln.

Den löslichen oder ungeformten Fermenten werden mit Recht die geformten oder organisirten Fermente entgegengestellt. Der Unterschied zwischen den löslichen und organisirten Fermenten besteht, um mich des aristotelischen Ausdrucks bedienen, nicht bloss προς ἡμας, sondern er besteht φυσει. Ihr gegenseitiges Verhältniss ist etwa wie das eines organischen chemischen Körpers zu einem organi sirten lebendigen Wesen. Indem die Hefe Bierwürze in Alkohol, Kohlensäure Glycerin und Bernsteinsäure zersetzt, vermehrt sie sich gleichzeitig und bildet d Bestandtheile ihres eigenen Körpers, wie Cellulose, Fett und wahrscheinlich i eigenthümliche Proteïnsubstanzen [2]). Das Gleiche gilt von den Spaltpilzen. A Product ihrer physiologischen Thätigkeit scheiden die Hefezellen das Invertin au das Rohrzucker in Glucose und Lävulose verwandelt, ähnlich wie die keimend Pflanzensamen ihre löslichen Fermente bilden, um die Reservestoffe zu lösen und zersetzen. Darf man denn die Zersetzungen der organischen Verbindungen dur lösliche und die durch organisirte Fermente in die gleiche Kategorie stellen od gar als identisch erklären? — Doch gewiss nicht. Früher oder später wird m die Zersetzung, z. B. des Amygdalins bei Gegenwart von Emulsin und Wasser Blausäure, Bittermandelöl und Zucker durch eine einfache Gleichung ausdrück

[1]) Bull. de la Soc. chim. **25**, 289. 1876.

[2]) Nach Payen ist die Zusammensetzung der Hefe wie folgt:

| | | |
|---|---|---|
| Stickstoffhaltige Materie | 62.73 | Proc. |
| Cellulose | 22.37 | „ |
| Fett | 2.10 | „ |
| Asche | 5.80 | „ |

(Vgl. Schützenberger, Les fermentations. Paris 1876, p. 58.)

können. Nicht so leicht aber die verschiedenartigsten chemischen Processe, welche bei der Zersetzung der Bierwürze durch Hefe stattfinden. Der erste Vorgang ist ein rein chemischer, der zweite ein physiologischer, und darin besteht ihr wesentlicher Unterschied, wenn auch für beide die gleichen chemischen Gesetze gelten.

Bekanntlich aber bestehen wesentliche biologische Unterschiede zwischen den organisirten Fermenten einerseits und den Pflanzen und Thieren andererseits. Die organisirten Fermente stimmen darin mit den grünen Pflanzen überein, dass sie den für ihren Stoffwechsel nöthigen Stickstoff in Form von einfachen Ammoniaksalzen assimiliren, was die Thiere nicht vermögen. Sie unterscheiden sich dagegen von den grünen Pflanzen dadurch, dass sie den Kohlenstoff nicht aus der Kohlensäure zu entnehmen vermögen, sondern nur complexere organische Verbindungen assimiliren und in dieser Beziehung mit den Thieren übereinstimmen. Das charakteristische Merkmal aber der organisirten Fermente (Hefe und Spaltpilze) ist, dass sie Anaërobien sind und bei vollkommenem Luftausschluss die organische Substanz, zwar langsamer, jedoch vollständig und in die gleichen Producte wie bei Luftzutritt umsetzen. Lässt man nach Pasteur [1]) Hefe an der Luft mit Zuckerlösung zersetzen, so vergährt der Zucker in der kürzesten Zeit, und falls für den grössten Luftwechsel und rasche Entfernung der gebildeten Kohlensäure gesorgt wird, so ist das Verhältniss der neu gebildeten Hefe zu zersetztem Zucker wie 1 : 8. Das Verhältniss kann sogar auf 1 : 4 gebracht werden. In diesem Falle aber lebt und wirkt die Hefe schon nach Art der Schimmelpilze. Lässt man dagegen bei vollkommenem Luftausschluss den Zucker durch Hefe zersetzen, so ist nach vollendeter Vergährung des Zuckers das Verhältniss der neugebildeten Hefe zu zersetztem Zucker wie 1 : 89, weshalb auch Pasteur trotz der viel längeren Dauer des Processes den Satz aufstellt, dass die Hefe dann das Maximum ihrer chemischen Wirksamkeit entwickelt, wenn ihr ein Minimum freien Sauerstoffs zu Gebote steht.

Dass die Hefe und Bacterien ohne Sauerstoff leben und Spaltungen complexer Moleküle hervorrufen können, wird neuerdings von Herrn Gunning [2]) in Zweifel gezogen, und obgleich er durch eigene Versuche sich darüber belehrte, dass Fäulniss und Bacterienbildung eintreten in Wasserstoff- und Stickstoffatmosphären, in welchen Phosphor nicht mehr leuchtet, so glaubt er doch auf Grund seiner Versuche annehmen zu können, dass die bisherigen Methoden, bei Gährungs- und Fäulnissversuchen Sauerstoff auszuschliessen, diesen Zweck nicht vollkommen erreichen. Wie mir scheint, übersieht dabei Herr Gunning das wesentliche Merkmal der anaërob organisirten Fermente gegenüber den aëroben Formen, wie: Aspergillus glaucus, Mucor racemosus, Mycoderma vini u. s. w. Hefe oder Bacterien können bei Luftausschluss nicht allein die Zersetzung grosser Mengen der Nährlösung hervorrufen, sondern sie auch genau wie bei Luftzutritt vollenden. Pasteur sah, dass Zucker durch Hefe bei Ausschluss der Luft gänzlich zersetzt wird, genau wie bei Luftzutritt, und das Gleiche habe ich bei der Zersetzung des Eiweisses durch Spaltpilze gesehen. Die aëroben Formen vermögen dies eben nicht.

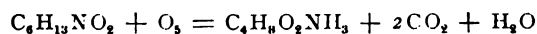
---

[1]) Etudes sur la bière, p. 244.

[2]) Journ. prakt. Chem. [2] **16**, 314.

In Bierwürze bei Luftausschluss gebracht, ändern sie anfangs ihre physiologische Thätigkeit — sie verhalten sich wie Hefe und zersetzen Zucker in Alkohol und Kohlensäure; sehr bald hört aber jede Zersetzung der Nährlösung und Vermehrung des Fermentes auf und bleibt unbegrenzte Zeit aus, wenn nicht von Neuem Luft hinzutreten kann (vergl. Pasteur, Etudes sur la bière, p. 86 u. f.).

Nach 29 tägiger Fäulniss von 150 g Eiweiss bei vollkommenem Luftausschluss erhielt Herr Jeanneret[1]) unter anderen Spaltungsproducten auch flüchtige Fettsäuren, hauptsächlich aus Buttersäure bestehend, und wenn der Säuregrad auf die letztere bezogen wird, würde dies 42.5 g Buttersäure entsprechen. Wie ich aber gezeigt habe, entsteht bei der Fäulniss aus dem Leucin zunächst valeriansaures Ammoniak, welches dann weiter zu buttersaurem Ammoniak oxydirt wird[2]). 42.5 g Buttersäure entsprechen 53.0 g Leucin. Um nun 53.0 g Leucin durch directe Sauerstoffzufuhr, nach der Gleichung:

$$C_6H_{13}NO_2 + O_5 = C_4H_8O_2NH_3 + 2CO_2 + H_2O$$

zu oxydiren, sind 32.5 g oder 22.6 Liter Sauerstoffgas erforderlich. Ein Blick in die Arbeiten von mir und Jeanneret würde Herrn Gunning überzeugen, dass die Spaltpilze, ohne freien Sauerstoff zu verzehren, nicht nur leben, sondern auch energische Oxydationen und zwar in grossem Maassstabe bewirken können.

Auf welche Weise geschehen dann aber diese Oxydationen, wenn der atmosphärische Sauerstoff keinen Antheil daran hat?

Ich habe mir öfters die Frage gestellt: Nach welchem chemischen Modus geschehen die Zersetzungen durch die Fäulniss bei Luftabschluss? — Die Producte, welche aus den Proteïnsubstanzen durch Fäulniss bei Luftzutritt oder Luftabschluss entstehen, sind die gleichen. Es treten zuerst die Hydratationsproducte auf: wie Peptone, Leucin, Amidovaleriansäure, Tyrosin, Glycocoll, sodann Kohlensäure, Ammoniak, flüchtige Fettsäuren und die Reductionsgase: wie Wasserstoff, Schwefelwasserstoff und Grubengas, ferner die für die Fäulniss charakteristischen aromatischen Producte: das Skatol, Indol und Phenol. Mit dem Auftreten der letzteren verschwindet das Tyrosin. Anfangs glaubte ich, dass die so verschiedenartigen Spaltungsproducte des Eiweisses bedingt werden durch die verschiedenartigen Formen der Fäulnissorganismen, zumal ich in den faulenden Flüssigkeiten Formen wie Coccos, Streptococcos, Mikrobacterien, Bacillen, Köpfchenbacterien vorfand, die zum Theil von Cohn als besondere Species dieser Organismen aufgeführt werden. Es war seither mein unablässiges Bemühen, nur eine von den von Cohn als besondere Art bezeichneten Formen auf Eiweiss einwirken zu lassen. Ich glaube, dass uns dies auch gelungen ist, wie dies namentlich aus demnächst mitzutheilenden Versuchen des Herrn Kaufmann hervorgeht; allein die erhaltenen Fäulnissproducte waren mit geringen Variationen immer die oben aufgezählten. Die Verschiedenartigkeit dieser Producte konnte nicht bedingt sein durch die verschiedenartige Form

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **15**. 1877. — Dieser Band S. 254.

[2]) Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas. Bern 1876. S. 26. — Dieser Band S. 206.

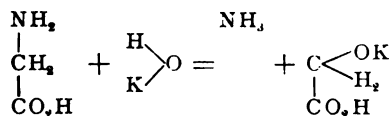
der Fäulnissfermente, sondern durch die ihnen eigenthümliche Art, die Proteïnsubstanz zu zersetzen, gleichgültig, ob bei Luftzutritt oder bei Luftausschluss.

Die nähere Betrachtung der Art, wie schmelzendes Kali auf Eiweiss einwirkt, liefert, glaube ich, auch den Schlüssel für das Verständniss des Vorganges, nach welchem die Fäulnissfermente das Eiweiss zersetzen.

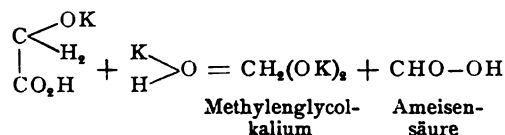
Aus den Versuchen Bopp's[1]) geht hervor, dass, wenn Eiweiss nur einige Stunden mit dem gleichen oder doppelten Gewichte Kalihydrat geschmolzen wird, als die ersten Spaltungsproducte Peptone, Leucin, Tyrosin, Kohlensäure und Ammoniak auftreten; ferner wenig flüchtige Fettsäuren, wenn die Schmelze bis zur Wasserstoffentwickelung erhitzt wird. Nimmt man grössere Mengen Kalihydrat und setzt das Erhitzen längere Zeit fort, so vermindert sich die Menge der syrupösen peptonartigen Materien. Die Menge der flüchtigen Fettsäuren nimmt zu, das Tyrosin verschwindet und statt dessen tritt Phenol auf, sowie die anderen aromatischen Materien (Skatol und Indol), und nach fünftägigem Erhitzen ist schliesslich die ganze Menge des Eiweisses in Kohlensäure, Ammoniak, Buttersäure und die aromatischen Producte, wie dies aus meiner obigen Mittheilung hervorgeht, umgewandelt worden. Schmelzendes Kali verwandelt also zunächst das Eiweiss in die Hydratationsproducte: wie Kohlensäure, Ammoniak und die Amidosäuren; sodann oxydirt es die letzteren unter Wasserstoffentwickelung zu flüchtigen Fettsäuren.

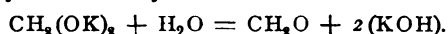
Vergleicht man nun den Gang der Zersetzung des Eiweisses bei der Kalischmelze und bei der Fäulniss, so ist die Aehnlichkeit dieser Processe in jeder Hinsicht eine auffallende. Lässt man Eiweiss bei 40° mit Pankreas faulen, so treten zuerst Peptone, Leucin, Amidovaleriansäure und Tyrosin auf. Das letztere verschwindet bald und statt dessen tritt Phenol auf, ferner Wasserstoff, Schwefelwasserstoff und die flüchtigen Fettsäuren. Die grösste Menge Indol wird nach drei- bis viertägiger Digestion erhalten. Das Leucin wird allmählich in dem Maasse, als es durch Hydratation entsteht, weiter, zunächst zu valeriansaurem, sodann zu buttersaurem Ammoniak umgewandelt. Die Menge der peptonartigen Materien nimmt immer ab, bis schliesslich, z. B. nach zweiwöchentlicher Fäulniss an der Luft bei 40°, von 100 Theilen Eiereiweiss in der faulenden Flüssigkeit 8.94 g Ammoniak, 3.06 g Kohlensäure, 44.06 g Buttersäure und 13.6 g peptonartiger Rückstand hinterblieben.

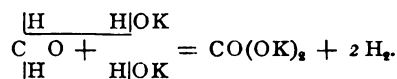
Laurent und Gerhart zeigten, dass Glycocoll unter Wasserstoffentwickelung durch schmelzendes Kalihydrat in Ameisensäure, Kohlensäure und Ammoniak gespalten wird. Liebig fand später, dass das Leucin, analog dem Glycocoll, mit schmelzendem Kali erhitzt, unter Bildung von Ammoniak, Kohlensäure, Valeriansäure und Entwickelung von Wasserstoffgas zersetzt wird. Die einfachste und natürlichste Vorstellung, auf welche Weise schmelzendes Kali das Glycocoll zersetzt, ist glaube ich folgende:

$$\begin{matrix} NH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CO_2H \end{matrix} + \begin{matrix} H \\ K \end{matrix}\!\!>\!O = \begin{matrix} NH_3 \\ \\ \\ \\ \\ \end{matrix} + \begin{matrix} C\!<\!\begin{matrix} OK \\ H_2 \end{matrix} \\ | \\ CO_2H \end{matrix}$$

[1]) Ann. Chem. Pharm. **69**, 30.

d. h. es entsteht in erster Phase Ammoniak und Kaliumglycolsäure. Die letztere wird aber sofort durch ein zweites Molekül KOH nach folgender Gleichung gespalten:

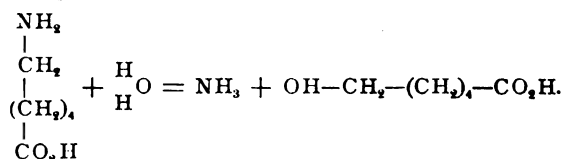
$$\begin{matrix} C<^{OK}_{H_2} \\ | \\ CO_2H \end{matrix} + \begin{matrix} K \\ H \end{matrix}>O = \underset{\text{Methylenglycol-kalium}}{CH_2(OK)_2} + \underset{\text{Ameisen-säure}}{CHO-OH}$$

Im Allgemeinen vermag aber ein Kohlenstoffatom nur eine Hydroxylgruppe fest zu binden. Es ist deshalb wahrscheinlich, dass die Gruppe $CH_2(OK)_2$ sich mit Wasser zu Formaldehyd und Kalihydrat umsetzt:

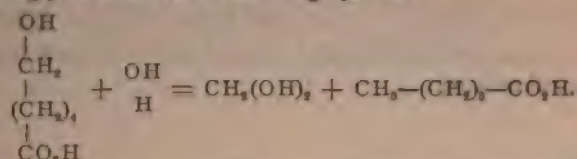
$$CH_2(OK)_2 + H_2O = CH_2O + 2(KOH).$$

Das Methylenglycol ist nicht bekannt, denn wo es auftreten sollte, scheidet es Wasser ab und bildet Formaldehyd. Die nächst liegende Vorstellung ist nun die, dass das Formaldehyd im Entstehungszustande vom Kalihydrat unter Wasserstoffentwickelung zu Kohlensäure oxydirt wird:

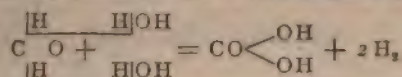
$$\begin{matrix} |H & H|OK \\ C \;\; O + & \\ |H & H|OK \end{matrix} = CO(OK)_2 + 2H_2.$$

Schmelzendes Kali zersetzt demnach Eiweiss oder dessen Derivate immer nach gleichem Modus, indem es in H + KO zerfällt, wodurch gleichzeitig Reductions- und Oxydationsproducte entstehen. Die Einwirkung muss eine sehr intensive sein, sobald die Amidosäuren unter Wasserstoffentwickelung zu Kohlensäure und kohlenstoffärmeren Fettsäuren oxydirt werden, denn, wie oben erwähnt, zeigte Schützenberger, dass Eiweiss durch mehrtägiges Erhitzen mit Barythydrat auf 160 bis 200° vollkommen in krystalloïde Producte (Kohlensäure, Essigsäure, Oxalsäure, Ammoniak und Amidosäuren) gespalten wird. — Es entstehen aber dabei kein Wasserstoff, keine Valerian- oder Buttersäure, und auch nicht die für die Fäulniss charakteristischen aromatischen Spaltungsproducte.

Da nun bei der Bacterienfäulniss aus dem Eiweiss die gleichen Producte wie durch schmelzendes Kali gebildet werden, so liegt die Annahme sehr nahe, dass bei der Fäulniss die Rolle des Kalihydrates das Wasser übernimmt, indem es in Wasserstoff und Hydroxyl zerfällt, d. h. dass die Fäulnissorganismen Wasser in H + OH spalten, wodurch das Auftreten von Reductionsgasen neben Hydratations- und Oxydationsproducten aufs Einfachste erklärt wird. Ich glaube daher, dass z. B. die Umwandlung des Leucins zu valeriansaurem Ammoniak bei der Fäulniss auf folgende Weise geschieht, wobei ich der Einfachheit halber annehme, dass das gewöhnliche Leucin normale Amidocapronsäure ist.

Die Bacterien spalten das $H_2O$ in H + OH, wodurch das Leucin zunächst nach folgender Gleichung zerfällt:

$$\begin{matrix} NH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ (CH_2)_4 \\ | \\ CO_2H \end{matrix} + \begin{matrix} H \\ H \end{matrix}O = NH_3 + OH-CH_2-(CH_2)_4-CO_2H.$$

Die entstandene Oxycapronsäure wird aber sofort durch ein zweites Molekül Wasser in Methylenglycol und Valeriansäure gespalten:

$$\begin{matrix} OH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ (CH_2)_4 \\ | \\ CO_2H \end{matrix} + \begin{matrix} OH \\ H \end{matrix} = CH_2(OH)_2 + CH_3{-}(CH_2)_3{-}CO_2H.$$

Das Methylenglycol, das in Formaldehyd und Wasser übergeht, wird nun genau wie bei der Kalischmelze in Kohlensäure und Wasserstoff nach der Gleichung:

$$C\begin{matrix} H \\ O \\ H \end{matrix} + \begin{matrix} H|OH \\ \\ H|OH \end{matrix} = CO\begin{matrix} OH \\ OH \end{matrix} + 2\,H_2$$

gespalten.

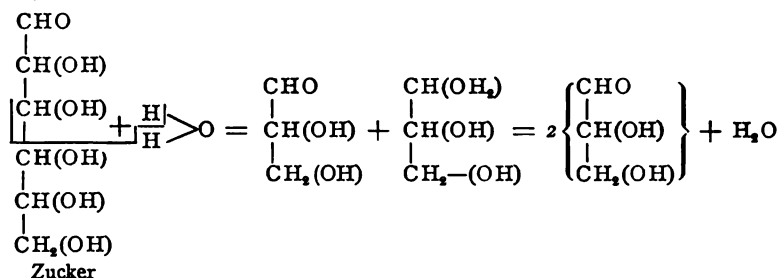
Nicht so leicht lässt sich die Entstehung der bis jetzt wenig bekannten Substanzen, wie Indol und Skatol, erklären. Möglich, dass an deren Bildung noch secundäre Reactionen ihren Antheil haben. Ich glaube jedoch, dass man diese Fragen durch experimentelle Untersuchungen wird beantworten können. — Auch sind verschiedene Variationen der von mir aufgestellten Zersetzungsgleichung der Amidosäuren denkbar. Das wesentliche Moment dabei ist aber das, dass das Wasser in H + OH zerfällt. Ausgehend von der Beobachtung, dass die Spaltpilze Eiweisslösungen ohne Luftzutritt zersetzen können, bezeichnete sie Pasteur als Anaërobien. Richtiger würde aber ihre Benennung Hydrobien sein. — Dass dem Wasser eine wesentliche Rolle bei der Zersetzung organischer Substanzen durch organisirte Fermente zukommt, ist übrigens schon von anderen Chemikern ausgesprochen worden, so sagt Hoppe-Seyler[1]), dass „alle fermentativen Processe nur in hinreichend verdünnten wässerigen Lösungen ungestört verlaufen und die chemische Mitwirkung des Wassers scheint für alle erforderlich zu sein", und noch viel früher schreibt Traube[2]), „die Veränderungen, die viele organische Körper durch Sauerstoff übertragende Fermente erleiden, die Gährungen, gehen fast immer unter activer Betheiligung des Wassers vor sich und zwar auf die Weise, dass die Fermente zunächst mit Hülfe einer Atomgruppe *A* des gährenden Körpers das Wasser zersetzen; *A* nimmt den Wasserstoff, das Ferment den Sauerstoff auf, um ihn auf eine andere Atomgruppe *B* des gährenden Körpers zu übertragen". Die Rolle des Wassers bei den fermentativen Vorgängen, so wie ich sie hier an der Hand der Zersetzung organischer Verbindungen durch Hydratationsmittel und durch schmelzendes Kali dargelegt habe, ist aber noch von Niemandem erkannt worden. Selbstverständlich betreffen meine Auseinandersetzungen über die Fäulniss nur die Art, wie das Eiweiss in diesem Processe zersetzt wird. Die mehr physiologische Seite dieses Processes, d. h. die Art, wie dabei die Spaltpilze ihre eigene Leibessubstanz bilden, bleibt nach wie vor unaufgeklärt.

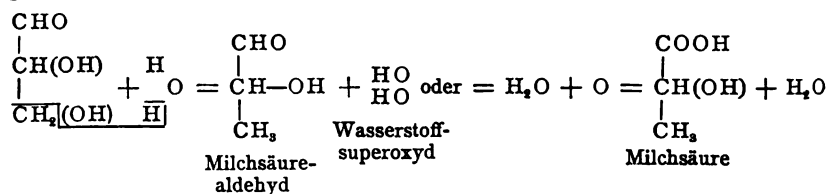
Wie bei der Fäulniss, so auch bei der Umwandlung des Zuckers zu Milchsäure durch Spaltpilze — der Milchsäuregährung — scheint mir das Wasser einen wesent-

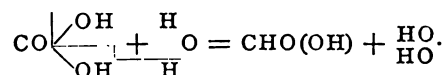
[1]) Physiologische Chemie I, 116. Berlin 1877.

[2]) Theorie der Fermentwirkungen. Berlin 1858. S. 105.

lichen Antheil zu haben. Diese Ansicht findet ihre Berechtigung in der oben erwähnten Beobachtung Schützenberger's, wonach durch Erhitzen des Zuckers mit Barythydrat und Wasser — also eine Hydratation — Milchsäure in grosser Menge erhalten wird. Den Mechanismus dieses Processes könnte man durch folgende Gleichung veranschaulichen:

$$\underset{\text{Zucker}}{\begin{array}{l} CHO \\ | \\ CH(OH) \\ | \\ CH(OH) \\ | \\ CH(OH) \\ | \\ CH(OH) \\ | \\ CH_2(OH) \end{array}} + \begin{array}{l} H \\ H \end{array}\!\!>O = \begin{array}{l} CHO \\ | \\ CH(OH) \\ | \\ CH_2(OH) \end{array} + \begin{array}{l} CH(OH_2) \\ | \\ CH(OH) \\ | \\ CH_2-(OH) \end{array} = 2\left\{\begin{array}{l} CHO \\ | \\ CH(OH) \\ | \\ CH_2(OH) \end{array}\right\} + H_2O$$

Es würden also aus einem Molekül Zucker durch Aufnahme und Austritt von Wasser zwei Moleküle des Dioxypropionaldehyds gebildet. Unter weiterer Mitwirkung von Wasser würde dann der Dioxypropionaldehyd auf folgende Weise in Milchsäure übergehen:

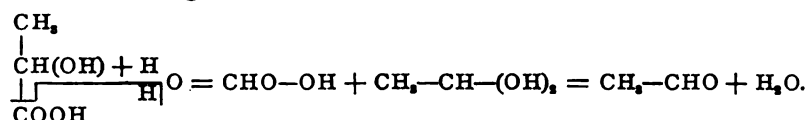
$$\begin{array}{l} CHO \\ | \\ CH(OH) \\ | \\ CH_2(OH) \end{array} + \begin{array}{l} H \\ H \end{array}\!\!O = \underset{\text{Milchsäure-aldehyd}}{\begin{array}{l} CHO \\ | \\ CH-OH \\ | \\ CH_3 \end{array}} + \underset{\text{Wasserstoff-superoxyd}}{\begin{array}{l} HO \\ HO \end{array}} \text{ oder } = H_2O + O = \underset{\text{Milchsäure}}{\begin{array}{l} COOH \\ | \\ CH(OH) \\ | \\ CH_3 \end{array}} + H_2O$$

In einer interessanten Publication über „das Wasser als Oxydations- und Reductionsmittel" theilt Herr Erlenmeyer[1]) seine Ansicht über die Art der Veränderung mit, welche die Kohlensäure in den Pflanzen erleidet. Nachdem der Verfasser gesehen, dass Gährungsmilchsäure mit Wasser, bei Gegenwart von Schwefelsäure erhitzt, in Aethylaldehyd und Ameisensäure gespalten wird, wobei das Hydroxyl des Wassers oxydirend auf das Radical $CH_3-CH-(OH)$ und der Wasserstoff reducirend auf das Radical Carboxyl wirkt, und nachdem er sich überzeugte, dass eine Reihe von Oxysäuren durch Wasser in gleichem Sinne gespalten wird, zieht er den Schluss, dass auch das niedrigste Glied der Reihe, die Kohlensäure, nach gleichem Schema zersetzt wird:

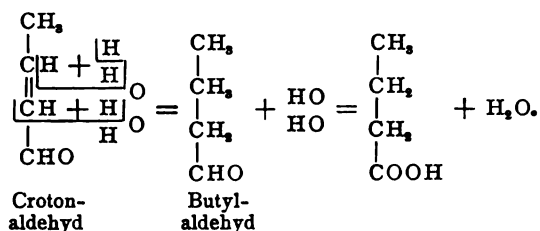
$$CO\!\!<\!\begin{array}{l} OH \\ OH \end{array} + \begin{array}{l} H \\ H \end{array}\!\!O = CHO(OH) + \begin{array}{l} HO \\ HO \end{array}.$$

Das Wasserstoffsuperoxyd zerfällt aber ähnlich wie die Aldehydhydrate in Wasser und Sauerstoff, und Erlenmeyer nimmt als wahrscheinlich an, dass die Spaltung der Kohlensäure in Ameisensäure und Wasserstoffsuperoxyd durch Wasser unter dem Einfluss des Chlorophylls und der Sonnenstrahlen in den Pflanzen bewirkt wird.

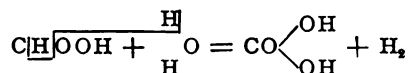
---

[1]) Berichte der bayerischen Akademie der Wiss., math.-phys. Classe 1876, Heft III, S. 292.

Die von Erlenmeyer beobachtete Zersetzung der Gährungsmilchsäure in Aethylaldehyd und Ameisensäure wirft, wie mir scheint, auch Licht auf die Buttersäuregährung, welche ebenfalls wie die Milchsäuregährung auch bei vollkommenem Luftabschluss verlaufen kann. In erster Instanz wird hier die Milchsäure in Aldehyd und Ameisensäure übergeführt:.

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH(OH) + H \\ | \\ COOH \end{array} \quad \begin{array}{l} \\ \\ \\ H \end{array} O = CHO{-}OH + CH_3{-}CH{-}(OH)_2 = CH_3{-}CHO + H_2O.$$

Da nun, wie schon die empirische Formel zeigt, an der Buttersäurebildung 2 Mol. Milchsäure betheiligt sein müssen und der Aethylaldehyd sehr leicht durch Condensation in Crotonaldehyd übergeht, so ist leicht möglich, dass auch bei der Buttersäuregährung dieser Vorgang stattfindet. Man hätte dann:

$$\underset{\text{Crotonaldehyd}}{\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH + H \\ \| \quad\quad H \\ CH + H \\ | \quad\quad H \\ CHO \end{array}} \begin{array}{l} O \\ \\ O \end{array} = \underset{\text{Butylaldehyd}}{\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CHO \end{array}} + \begin{array}{l} HO \\ HO \end{array} = \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array} + H_2O.$$

Indem nun andererseits die 2 Mol. Ameisensäure unter Wasserstoffentwickelung u. Kohlensäure nach der Gleichung:

$$CH\,OOH + \begin{array}{l} H \\ H \end{array} O = CO \begin{array}{l} OH \\ OH \end{array} + H_2$$

oxydirt werden [1]), erhält man die empirische Formel der Buttersäuregährung:

$$(C_3H_6O_3)_2 = C_4H_8O_2 + 2\,CO_2 + 2\,H_2.$$

Dass auch die Bildung von Alkohol und Kohlensäure aus Zucker durch die Hefe unter Mitwirkung von Wasser geschieht, ist nicht nur möglich, sondern sogar wahrscheinlich. Ich bin jedoch weit davon entfernt, es als sicher hinzustellen, dass ausnahmslos bei allen fermentativen Vorgängen Wasser in die chemische Reaction tritt. Beobachtungen, die wir über die Zersetzung organischer Substanzen durch die Schimmelpilze an der Luft, sowie über die sogenannten „Gährungen durch Oxydation" [2]) haben, sprechen unzweideutig dafür, dass daran der atmosphärische Sauerstoff direct betheiligt ist. Wir verdanken andererseits Pasteur die Entdeckung, dass Schimmelpilze, in Zuckerlösungen unter Luftabschluss gebracht, nicht allein ihre Form, sondern auch ihre chemische Thätigkeit ändern, indem sie dann wie Hefe den Zucker zersetzen. Aehnliche Verhältnisse werden aller Wahrscheinlichkeit nach auch

[1]) Nach Erlenmeyer (Neues Handwörterbuch der Chemie 1, 370) zerfällt ameisensaures Kali, mit hinreichend Alkali erhitzt, glatt nach der Gleichung: $(CHO_2K) + (KOH)_2 = 2(CO_3K_2) + 2\,H_2$, ebenso werden nach Popoff (Maly's Jahresber. für 1875, S. 276) die ameisensauren Salze durch die Fäulnissfermente in Kohlensäure und Wasserstoff gespalten.

[2]) Vergl. hierüber Schützenberger, Les fermentations. Paris 1876. p. 193 u. f.

bei den Spaltpilzen sich herausstellen. Ich kann schon jetzt auf Grund mehrfacher Beobachtungen angeben, dass nicht alle Formen der Spaltpilze bei Luftabschluss leben können und je nach der Temperatur, Nährlösung, Luftzutritt u. s. w. aus der gleichen Aussaat constant verschiedene Formen erhalten werden können, wobei auch zum Theil verschiedene chemische Producte auftreten.

Ich habe auf Grund exacter Thatsachen gezeigt, auf welche Weise Bacterien die Oxydation organischer Verbindungen auch ohne Sauerstoff bewirken können. Man kann die Fäulniss bei Luftabschluss nur dann verstehen, wenn man annimmt, dass Bacterien Wasser in Wasserstoff und Hydroxyl zersetzen, und ich bin der Ansicht, dass durch fortgesetzte Untersuchungen der Gährungs- und Fäulnissprocesse diese Annahme zu einer allgemein anerkannten Wahrheit werden wird.

Bern, im Januar 1878.

---

# Ueber die flüchtigen Bestandtheile der menschlichen Excremente

von

**Dr. Ludwig Brieger.**

Journ. prakt. Chem. 17, 124.

Die neueren Arbeiten über die Fäulnissprocesse und deren Endproducte haben uns mehrere neue und interessante Thatsachen gebracht. Eine für die Lehre von der Verdauung wichtige Errungenschaft auf diesem Gebiete war die Erkenntniss, dass die Fäulniss ein auch im Darmrohr normaler Process ist und die Spaltpilze an der Zersetzung des Speisebreies einen nicht gering anzuschlagenden Antheil haben. Da nun aus den Untersuchungen von Nencki, Kühne und Hüfner hervorgeht, dass bei der Digestion von Eiweiss mit Pankreas die Bildung von flüchtigen Fettsäuren, Indol, sowie den Reductionsgasen, wie Wasserstoff, Schwefelwasserstoff und Grubengas, nicht durch den pankreatischen Saft, sondern durch die Bacterien bewirkt wird, so muss das Auftreten dieser Substanzen in den einzelnen Abschnitten des Darmrohrs als verursacht durch die daselbst stattfindende Fäulniss angesehen werden.

Unsere Kenntniss der chemischen Zusammensetzung des Darminhalts ist bislang eine sehr mangelhafte. Seit der Arbeit von Tiedemann und Gmelin[1]) ist kaum eine nennenswerthe Untersuchung hierüber erschienen. Verhältnissmässig am genauesten sind wir durch die Arbeiten von Ruge[2]), Marchand und Chevreul[3]) u. A. über die Zusammensetzung der Darmgase unterrichtet.

---

[1]) Die Verdauung nach Versuchen von Friedrich Tiedemann und Leopold Gmelin. 1826.

[2]) Gautier, Chim. phys. 1, 426 u. 435.

[3]) Valentin, Grundzüge der Physiol. IV. Aufl. S. 92.

Es war daher im hohen Grade wünschenswerth, mit Zuhülfenahme der bei den neueren Fäulnissuntersuchungen erprobten Methoden den Zersetzungsvorgängen im menschlichen Darme nachzuforschen, um alsdann auch von dieser Seite die Bedingungen des Stoffwechsels im menschlichen Körper kennen zu lernen.

Aus den einzelnen Abschnitten des Darmrohrs die zur Verarbeitung nöthigen Quantitäten zu gewinnen, standen zu viel Hindernisse entgegen, deshalb suchte ich mich vorerst mit den nicht resorbirten Umwandlungsproducten des Dickdarms bekannt zu machen, nach deren Kenntniss leichter die Auffindung derselben im Dünndarminhalt gelingen musste.

Vorläufig habe ich nur die flüchtigen Bestandtheile der Excremente, und zwar bei der Destillation aus saurer Lösung, in den Kreis meiner Untersuchungen gezogen, und will ich die Ergebnisse, nachdem ich bis zu einem gewissen Abschluss gelangte, im Folgenden beschreiben.

Vorausschicken möchte ich, dass dazu die normalen Excremente von Gesunden und Reconvalescenten der hiesigen medicinischen Abtheilung verwendet wurden und sorgfältig beachtet wurde, bei etwaigem Arzneigebrauche für meine Untersuchungen indifferente Stoffe (Natr. bic. oder Acid. muriat.) zu verabfolgen. Nur später, wo ich, um das Skatol in für Analysen hinreichenden Mengen zu erhalten, grosse Mengen Excremente destilliren musste, wurde der Inhalt der Spitalaborte benutzt.

Zunächst wurden die flüchtigen Fettsäuren auf folgende Weise isolirt.

Die täglichen Excremente von acht bis zehn Personen wurden mit Wasser zu einem Brei angerührt, die gröberen Bestandtheile auf einem Drahtnetze zurückbehalten, das Filtrat mit 20 ccm englischer Schwefelsäure angesäuert und aus einer tubulirten Glasretorte destillirt, das filtrirte saure Destillat mit Natronlauge neutralisirt und auf dem Wasserbade so weit verdunstet, bis das Acetat herauskrystallisirt. Die Krystallmasse wurde mit absolutem Alkohol versetzt, filtrirt, wobei dann das essigsaure Natrium auf dem Filter zurückblieb, das Filtrat selbst nach Verdunsten des Alkohols durch Schwefelsäure zerlegt. Die sich nun abscheidenden Fettsäuren wurden über Chlorcalcium, dem etwas Aetzbaryt, um etwa frei werdende Salzsäure zu binden, beigefügt worden, getrocknet und dann rectificirt. Hierbei stieg, wie ich einige Male beobachten konnte, das Thermometer rasch bis auf 120°, erreichte allmählich 160° und wurde dann noch eine kleine Portion bei 160 bis 165° gewonnen. Die Hauptmenge lieferte das bei 120 bis 160° übergegangene Destillat, welches noch einmal rectificirt und davon die zwischen 158 bis 165° bei 720 mm Barometerstand siedende Fraction in das Silbersalz übergeführt wurde. 0.2562 g dieses Silbersalzes hinterliessen beim Glühen 0.1428 Ag = 55.73 Proc. Buttersaures Silber verlangt 55.28 Proc. Ag. Die unter 158° überdestillirte Fraction habe ich mit kohlensaurem Guanidin neutralisirt und das Guanidinsalz durch Erhitzen bis zur Ammoniakentwickelung in das entsprechende Guanamin übergeführt. Die erhaltene Base war schwerer löslich als das Guanamin der normalen Buttersäure, und liess mikroskopisch die für das Guanamin der Isobuttersäure charakteristischen spitzen Rhomboëder erkennen, die völlig identisch waren mit der frisch aus reiner Isobuttersäure dargestellten Base.

Ungefähr zu drei Viertel bestehen die flüchtigen Fettsäuren der Fäces aus Essigsäure. Nur einmal aus Alkohol umkrystallisirt, erhält man das Acetat ganz rein.

0.791 g lufttrockenen Salzes verloren 0.3124 oder 39.5 Proc. $H_2O$.

$C_2H_3O_2Na + 3H_2O$ verlangt 39.7 Proc. $H_2O$ und 0.4786 g des trockenen Salzes gaben 0.412 g $SO_4Na_2$ oder 27.9 Proc. Na. Berechnet wurden für $C_2H_3O_2Na$ 28.04 Proc. Na.

Ausser Essigsäure und Buttersäure kommen noch minimale Spuren höherer Fettsäuren vor, deren Gewinnung in für Analysen hinreichender Menge mir erst nach zweimaliger Destillation von je 50 kg menschlicher Fäces mit Essigsäure gelang, obwohl auch hierbei die Ausbeute nur eine sehr geringe war. Die von den Excrementen erhaltenen Destillate, nachdem sie mit Natronlauge neutralisirt und auf ein kleines Volumen eingedampft worden, wurden dann noch einmal mit $SO_4H_2$ destillirt und über Chlorcalcium getrocknet.

Bei der Fractionirung habe ich zunächst eine Portion zwischen 120 bis 143° erhalten. Sie wurde nochmals rectificirt und aus der zwischen 135 bis 143° siedenden Fraction das Silbersalz hergestellt.

0.2110 g dieses Silbersalzes gaben 0.1173 g oder 55.59 Proc. Ag.

0.2076 g desselben Salzes gaben 0.1156 g oder 55.68 Proc. Ag, also das Salz der Buttersäure. Bei der Guanaminreaction erhielt ich nur das Guanamin der normalen Buttersäure, das der Isobuttersäure konnte ich auch in der zwischen 143 bis 155° siedenden Fraction nicht nachweisen, nur das Guanamin der normalen Buttersäure krystallisirte jedesmal heraus. Gleiches Guanamin lieferte die von 155 bis 166° aufgefangene und zwischen 155 bis 160° noch einmal rectificirte Portion.

0.1193 g des Silbersalzes davon hinterliessen beim Glühen 0.643 g = 53 Proc. Ag.

0.1905 g desselben Salzes gaben 0.1005 g oder 52.76 Proc. Ag.

Somit hatte ich ein Gemenge von buttersaurem Silber, welches 55.73, und valeriansaurem Silber, das 51.67 Proc. Ag verlangt, in Händen.

Aus der zwischen 166 bis 175° siedenden Fraction wurde bei nochmaliger Rectification die zwischen 170 bis 176° siedende Fraction zur Darstellung des Silbersalzes verwendet.

0.1317 g Substanz hinterliessen nach dem Glühen 0.0674 g Ag = 51.17 Proc. Ag.

Valeriansaures Silber verlangt 51.67 Proc. Ag. Das Guanamin dieser Fraction zeigte unter dem Mikroskop stets nur quadratische Prismen mit krummen Flächen, wie sie auch Nencki[1]) bei seinen Fäulnissversuchen mit Leucin erhielt und als charakteristisch für die Fäulnissvaleriansäure bezeichnet. Die Base der aus käuflichem Amylalkohol bereiteten Valeriansäure krystallisirt in rhombischen, längs der Hauptaxe zusammengewachsenen Nadeln. Weitere Untersuchung dieser Fäulnissvaleriansäure, die allem Anschein nach nicht identisch ist mit der aus Gährungsamylalkohol bereiteten, war wegen der geringen Menge nicht möglich.

Die höchst siedende Fraction endlich war die bei 175 bis 180° übergehende, deren Rectification die geringe Menge unmöglich machte.

---

[1]) v. Nencki, Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas. Festschrift. Bern 1876. S. 27. — Dieser Band S. 205.

0.2868 g des daraus dargestellten Silbersalzes gaben 0.1454 g oder 50.7 Proc. Ag.

0.1514 g des gleichen Salzes gaben 0.0761 g = 50.26 Proc. Ag.

Mithin Mittelwerthe zwischen valeriansaurem und capronsaurem Silber. Diese Portion in die Guanaminbase umgewandelt, liess mikroskopisch nur die für das Guanamin der Capronsäure charakteristischen quadratischen Pyramiden erkennen.

Um zu sehen, ob der geringe, in dem Fractionskölbchen hinterbliebene Rückstand etwa höhere Fettsäuren enthält, wurde der Rückstand in Wasser gelöst, mit Aether geschüttelt, derselbe abgegossen, auf dem Wasserbade verdunstet, der Rückstand mit $H_2O$ und $NH_3$ angerührt, filtrirt, das überschüssige $NH_3$ verjagt und dann in das Silbersalz verwandelt.

0.2523 g Substanz gaben geglüht 0.1273 g oder 50.46 Proc. Ag.

0.3254 g Substanz hinterliessen geglüht 0.1643 g oder 50.49 Proc. Ag.

Also gleichfalls Mittelwerthe von valeriansaurem und capronsaurem Silber.

Die flüchtigen Fettsäuren der menschlichen Excremente bestehen demnach aus Essigsäure, normaler und Isobuttersäure, Valeriansäure und Capronsäure; höhere Fettsäuren liessen sich trotz der Verarbeitung so grosser Fäcalmassen nie nachweisen. Es sind dies also die gleichen Fettsäuren, die Nencki[1]) bei der Fäulniss verschiedener Eiweissstoffe erhielt. Was die Isobuttersäure betrifft, so erhielt ich diese nur bei der Destillation der Excremente mit $SH_2O_4$. Da dieselbe bei der Destillation mit Essigsäure behufs Gewinnung höherer Fettsäuren nicht erhalten werden konnte, so ist es möglich, dass sie nicht als Salz, sondern als eine Amidoverbindung vorkommt, welche erst durch Destillation mit verdünnter $SH_2O_4$ gespalten wird.

Ausser diesen flüchtigen Fettsäuren fand ich noch constant in den Fäces Phenol, Indol und eine neue Substanz, die ich Skatol benannt habe.

Zur Gewinnung dieser Substanzen schlug ich nach vielen Vorversuchen in gläsernen Retorten folgendes Verfahren ein.

5 bis 6 kg frischer Fäces wurden mit 8 Liter Wasser verrührt, mit 200 bis 300 ccm Essigsäure angesäuert und in einer kupfernen Blase auf dem Sandbade destillirt, bis ungefähr 6 Liter in die Vorlage übergegangen. Das filtrirte Destillat wurde mit Natronlauge neutralisirt, mit etwa einem Drittel Volumen Aether ausgeschüttelt, der Aether abdestillirt bis auf ein geringes Volumen, der letzte Rest des Aethers in einer kleinen Schale verdunsten gelassen, wobei ein geringer öliger Rückstand zurückblieb, der dann meistentheils nach einiger Zeit krystallinisch erstarrte. Wird derselbe mit wenig heissem Wasser im Reagensröhrchen gekocht, so löst er sich grösstentheils auf, und heiss filtrirt scheidet sich dann beim Erkalten das Skatol in krystallinischen Blättchen aus. In Lösung bleiben Indol, Phenol und ein gelbes Oel, auf das ich unten zurückkommen werde, und Spuren nicht näher definirbarer Substanzen.

Von Wichtigkeit für die Ausbeute an diesen Substanzen ist, dass das Destillat sauer reagirt. Auch dürfen die Excremente nicht zu einem zu dicken Brei angerührt werden, da leicht die Masse überschäumt.

---

[1]) Nencki, Journ. prakt. Chem. [2] **15**, 390, 1877, und über die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses etc. Bern 1876. — Dieser Band S. 270 u. 181.

Das Skatol (von τὸ σκατός = faeces) krystallisirt in unregelmässig gezähnelten, glänzend weissen Blättchen, ähnlich dem Indol, von intensiv fäcalem Geruch. Sehr rein und mit weniger Verlusten erhielt ich das Skatol, wenn ich das nach Verdunsten des Aethers zurückgebliebene Oel mit wenig Kalilauge destillirte. Hierbei wurde das Phenol zurückbehalten, doch gingen immer noch Indol und das gelbe Oel oder dessen Zersetzungsproducte über, was eine wiederholte Krystallisation aus heissem Wasser bedingte. Am bequemsten und vortheilhaftesten erhält man Skatol auf folgende Weise: Der ätherische skatolhaltige Rückstand wird mit einer ätherischen Pikrinsäurelösung im Ueberschusse versetzt, worauf sich der Aether erst hellroth und dann dunkelroth färbt. Nach dem Verdunsten des Aethers krystallisirt die Pikrinsäureverbindung des Skatols mit wenig Indol in dunkelrothen Nadeln heraus. Die Krystalle werden auf ein Filter gebracht und durch Waschen mit kaltem Wasser von den geringen Mengen überschüssiger Pikrinsäure befreit. Die ausgewaschene, auf Fliesspapier getrocknete Pikrinverbindung wird aus einer kleinen tubulirten Retorte mit Wasser, dem ein wenig Ammoniak zugesetzt worden, destillirt, wobei sich das Skatol mit den Wasserdämpfen verflüchtigt und sowohl im Kühlrohr, wie in der Vorlage in Krystallblättchen sich absetzt. Die einmal aus heissem Wasser umkrystallisirte Substanz schmolz constant bei 93.5°, gleich wie die nach den anderen beiden Methoden durch wiederholtes Umkrystallisiren gewonnenen Präparate.

Das Skatol ist in Wasser schwerer löslich als Indol. Von Indol unterscheidet es sich ausser in seinem Schmelzpunkt (Indol bei 52°) und Geruch dadurch, dass in seinen Lösungen mit Chlorwasser keine Färbung eintritt, mit rauchender Salpetersäure kein rother Niederschlag, sondern eine weissliche Trübung entsteht, ebenso ein weisser Niederschlag beim Hinzufügen von salpetrigsaurem Kali und Essigsäure, der beim Erwärmen verschwindet. Chromsäurelösung, mit concentrirter Skatollösung gelinde erwärmt, giebt beim Erkalten einen amorphen rothen Niederschlag; durch Eisenchlorid nimmt die Skatollösung keine besondere Farbennüance an. In warmer verdünnter Salpetersäure löst sich das Skatol auf, krystallisirt jedoch beim Erkalten unverändert aus. Längere Zeit mit concentrirter Salpetersäure erwärmt, wird es zersetzt, wobei dem Nitrophenol ähnlich riechende Dämpfe entweichen. Die Lösung in verdünnter Salz- und Salpetersäure nimmt namentlich beim Erwärmen einen leichten Stich ins Violette an.

Naphtylamin, dessen Geruch etwas an den des Skatols erinnert, ist ausser durch seinen Schmelzpunkt (50°) und seine Krystallform leicht dadurch vom Skatol zu unterscheiden, dass der letzte Körper in concentrirter wässeriger Lösung mit salpetersaurem Silberoxyd weder eine Trübung, noch eine Farbenveränderung zeigt, während Spuren von Naphtylamin, mit salpetersaurem Silberoxyd erhitzt, den Piria'schen Farbstoff, das Naphtameïn, liefern.

Die ersten Analysen haben mir keine übereinstimmenden Zahlen ergeben. Wie ich schon in meiner vorläufigen Mittheilung[1]) erwähnte, ergab das einmal umkrystallisirte Präparat 84.8 Proc. C und 7.93 Proc. H, ein zweimal aus heissem Wasser

---

[1]) L. Brieger, Ueber die flüchtigen Bestandtheile der menschlichen Excremente Ber. 10, 1027. — Dieser Band S. 239.

umkrystallisirtes Präparat (Schmelzpunkt 93°) ergab 83.19 Proc. C und 7.61 Proc. H. Auch für Stickstoff wurden nicht übereinstimmende und meist zu hohe Zahlen gefunden (10 bis 11.5 Proc.). Zu den folgenden Analysen wurden Präparate verschiedener Darstellung verwendet, die alle schneeweiss waren, von constantem Schmelzpunkt (93.5°), und keine Spur weder von Indol noch von dem gelben Oel enthielten. Allerdings schrumpfte durch das Umkrystallisiren die schon ursprünglich geringe Ausbeute sehr zusammen, und ich musste verhältnissmässig geringe Mengen Substanz zur Analyse verwenden. Die Verbrennungen wurden theils im offenen, theils im zugeschmolzenen Rohr mit CuO und vorgelegtem metallischem Kupfer ausgeführt.

I. 0.1175 g der zweimal aus heissem Wasser umkrystallisirten Substanz gaben 0.3571 g $CO_2$ und 0.076 g $H_2O$ oder 82.81 Proc. C und 7.20 Proc. H.

II. Nach gleicher Methode dargestellt. Schmelzpunkt 93°. 0.0810 g Substanz gaben 0.2471 g $CO_2$ und 0.0555 g $H_2O$ oder 83.19 Proc. C und 7.61 Proc. H.

III. 0.0834 g der über Kali destillirten und sodann aus heissem Wasser umkrystallisirten Substanz gaben 0.2541 g $CO_2$ und 0.0617 g $H_2O$ oder 83.08 Proc. C und 8.21 Proc. H.

IV. 0.1095 g nach dem gleichen Verfahren bereiteter Substanz gaben 0.3338 g $CO_2$ und 0.0679 g $H_2O$ oder 83.14 Proc. C und 6.88 Proc. H.

V. 0.1498 g der mit Pikrinsäure gefällten und wie oben angegeben gereinigten Substanz gaben 0.4558 g $CO_2$ und 0.1062 g $H_2O$ oder 82.96 Proc. C und 7.87 Proc. H.

Es wurden gefunden:

| | I. | II. | III. | IV. | V. | Im Mittel |
|---|---|---|---|---|---|---|
| C | 82.81 | 83.19 | 83.08 | 83.14 | 82.96 | 83.01 |
| H | 7.20 | 7.61 | 8.21 | 6.88 | 7.87 | 7.55 |

Nach den Formeln $C_{10}H_{10}N$ und $C_{10}H_{11}N$ berechnet:

| | | | |
|---|---|---|---|
| $C_{10}$ | 83.30 Proc. | $C_{10}$ | 82.75 Proc. |
| $H_{10}$ | 6.94 " | $H_{11}$ | 7.59 " |
| N | 9.73 " | N | 9.66 " |

Da den Ausschlag zwischen diesen beiden möglichen Formeln nur die Kohlenwasserstoffbestimmung geben konnte, so habe ich, da ich aus den ersteren Analysen wusste, dass das Skatol sauerstofffrei ist, und bei der Schwierigkeit, reines Skatol zu erhalten, keine Stickstoffbestimmungen ausgeführt. Die erhaltenen Zahlen stehen, was den Kohlenstoff betrifft, ziemlich in der Mitte zwischen den beiden möglichen Formeln. Auf Grund des höher gefundenen Wasserstoffgehaltes und des ganzen chemischen Verhaltens, wonach das Skatol als eine dem Indol homologe Substanz erscheint, glaube ich jedoch, dass die Formel $C_{10}H_{11}N$ den Vorzug verdient. Danach würde das Indol in dem Verhältnisse zu Skatol stehen, wie etwa das Benzol zu Aethylbenzol. Auffallend ist immerhin der in den Analysen I. und IV. erhaltene niedrige Wasserstoffgehalt.

Das aus menschlichen Excrementen erhaltene Skatol ist sowohl mit dem von Prof. Nencki durch Schmelzen von Eiweiss mit Kali, als auch mit dem von Herrn

Secretan[1]) im hiesigen Laboratorium nach sechsmonatlicher Fäulniss von Eiweiss unter Wasser erhaltenen Skatol identisch. Eine von Prof. Nencki aufbewahrte Probe des Secretan'schen Präparats konnte ich mit dem von mir erhaltenen Skatol vergleichen, wobei ich fand, dass die beiden Präparate in allen ihren Eigenschaften übereinstimmen.

Ausser Skatol ist, wenn auch in sehr geringen Mengen, constant Indol in den menschlichen Excrementen enthalten, wovon man sich leicht überzeugen kann, wenn der ätherische Rückstand aus heissem Wasser umkrystallisirt wird. Nach dem Auskrystallisiren des Skatols giebt die davon filtrirte Lauge den für das Indol charakteristischen, aus den rothen voluminösen Nadeln bestehenden Niederschlag. Die Menge des Indols ist jedoch eine ganz minimale. Reines Indol in Substanz darzustellen, gelang mir selbst nach der Vereinigung der Filtrate von über 50 kg Fäces nicht. In verhältnissmässig grösserer Menge habe ich Indol bei der Destillation des menschlichen Dünndarminhalts erhalten. Auch Hundeexcremente scheinen mehr Indol zu enthalten.

Phenol ist als constantes Product der Fäulniss zuerst von Baumann[2]) nachgewiesen worden. Es tritt neben anderen, dem Phenol verwandten Körpern, wie sich aus dem stets stark kreosotähnlichen Geruch schliessen lässt, auch constant bei der Dickdarmfäulniss auf. Zu seiner Darstellung wurden die Mutterlaugen von der ersten Krystallisation des Skatols, welches nach der zuerst erwähnten Methode bereitet worden, mit Kalilauge versetzt und so lange destillirt, bis weder Indol noch Skatol nachweisbar waren. Der Retortenrückstand wurde sodann mit Schwefelsäure angesäuert, von einem dabei entstehenden amorphen Körper filtrirt und von Neuem destillirt. Das Destillat, das den charakteristischen Phenolgeruch besitzt, giebt mit Eisenchlorid eine violette Färbung, und Bromwasser fällt daraus einen aus feinen Nadeln bestehenden Niederschlag. Von je 50 kg Fäces erhielt ich einmal 0.2496 g, ein anderes Mal 0.1504 g Tribromphenol, welches, durch Sublimation gereinigt, bei 95° schmolz. Selbstverständlich rührten die zur Darstellung des Phenols verwendeten Excremente nur von Leuten her, denen weder Phenol, noch Salicylsäure verabreicht worden.

Bei Hunden, die längere Zeit nur auf Brot- oder Fleischnahrung gesetzt worden, fand sich kein Skatol in den Fäces, sondern ausser Indol hauptsächlich ein gelbes Oel von eigenthümlich widrigem, die Schleimhäute reizendem Geruch. Das gleiche Oel kommt auch bei Menschen, namentlich nach reichlicher Fleischnahrung, vor. In analysirbarem Zustande konnte es nicht erhalten werden, indem, abgesehen von den geringen Mengen, diese Substanz auch sehr leicht zersetzbar ist. Mit Natronlauge erhitzt, giebt es nach einiger Zeit einen rothen, widerlich riechenden Niederschlag. Dieses gelbe, jedoch noch indolhaltige Oel giebt beim Erwärmen mit Eisenchlorid und Salzsäure eine dunkelrothe Färbung. Dieses Oel neben bedeutender Menge Indol trat auch zu wiederholten Malen bei der Destillation menschlicher

---

[1]) Recherches sur putréfaction de l'albumine et sur sa transformation en graisse. Dissertation inaugurale. Genève 1876. p. 14. — Dieser Band S. 223.

[2]) E. Baumann, Ueber die Bildung von Phenol bei der Fäulniss von Eiweisskörpern Ber. **10**, 685.

pathologischer Flüssigkeiten auf, so aus osteomyelitischen Abscessen, stinkenden Pleural- und Peritonealflüssigkeiten von am Puerperalfieber oder allgemeiner Carcinose gestorbenen Frauen. Wälchli erhielt es bei der Fäulniss des Mucins, und bei der Eiweissfäulniss tritt es unter gewissen Verhältnissen auf.

Weder bei Typhus noch in diarrhoeischen Stuhlgängen konnte Skatol nachgewiesen werden.

Es ist eine bemerkenswerthe Thatsache, dass, während bei den verschiedensten Fäulnissprocessen vorwiegend Indol entsteht, umgekehrt im menschlichen Darmrohr hauptsächlich Skatol gebildet wird.

Um die Bedingungen kennen zu lernen, unter denen Skatol entsteht, habe ich folgende Versuche angestellt.

120 g menschlichen Pankreas wurden vier Tage bei 40° der Fäulniss überlassen. Unter den flüchtigen aromatischen Producten fand ich Indol, kein Skatol. Auf gleiche Weise liess ich in alkalischer Lösung verfaulen, einerseits 2.5 kg feingehacktes Rindfleisch mit 5 g menschlichen Pankreas versetzt, andererseits fünf Pankreasdrüsen vom Rind. Zur Alkalescenz wurden in dem einen Versuche 25 g Soda, in dem anderen 25 ccm 10 proc. Ammoniak benutzt. Auch hier wurde nur Indol gewonnen. Ebenso nach 14 tägiger Fäulniss von fünf feingehackten Pankreasdrüsen bei gewöhnlicher Temperatur.

Nun wurden 2.5 kg feingehacktes Fleisch mit Ochsengalle und 5 g Pankreas bei 40° vier Tage lang der Fäulniss ausgesetzt. Ich erhielt wieder nur Indol, ebenso wie nach der Fäulniss von 5 g Ochsenpankreas mit gleich viel Galle, daneben hier aber noch das gelbe Oel. Dieses gelbe Oel war das einzige Product viertägiger Fäulniss bei 40° von 750 g Ochsengalle, denen sehr wenig fauler Pankreas zugesetzt worden. Ausserdem trat daneben noch Phenol auf, das als Tribromphenol nachgewiesen wurde. Das Drüseneiweiss von 6 g Ochsenpankreas wurde mittelst Kochen bei vorsichtigem Essigsäurezusatz zur Gerinnung gebracht und dann bei 40° faulen gelassen. Bereits nach 12 Stunden war intensive Fäulniss vorhanden und alles Eiweiss in Lösung übergegangen. Nach zwei Tagen wurde mit Essigsäure angesäuert und destillirt. Ich erhielt daraus sehr viel Indol, das bei 52° schmolz, aber kein Skatol.

Eiweiss von 20 Eiern wurde durch Kochen und Ansäuern mit Essigsäure coagulirt, sodann bei 40° mit 5 g Pankreas stehen gelassen. Erst nach 10 Tagen wurde alles Eiweiss durch Fäulniss verflüssigt. Die Ursache, dass in diesem Versuche die Fäulniss so spät eingetreten, liegt sehr wahrscheinlich darin, dass beim Ansäuern des Eiweisses ein wenig mehr Essigsäure, als zur Gerinnung nöthig, zugesetzt wurde. Beim Destilliren mit Essigsäure gewann ich hieraus neben Indol noch das gelbe widerlich riechende Oel.

Auch Eiweiss von 6500 ccm einer Ascitesflüssigkeit, das durch Kochen und wenig Essigsäure völlig ausgefällt und dann bei 40° vier Tage lang der Fäulniss überlassen wurde, lieferte nur Indol und das gelbe Oel.

Endlich wurde eine ganze Mahlzeit, wie sie gewöhnlich den Individuen, aus deren Excrementen ich das Skatol darstellte, verabreicht wurde, bei 40° mit 5 g Pankreas faulen gelassen. Die Mahlzeit bestand aus 250 g feingehackten gekochten

ıorpher schwarzer Farbstoff aus, der in Chloroform und Aether sich etwas mit ıuner Farbe löst. Mit weiteren Untersuchungen hierüber bin ich noch beschäftigt.

Schon die bis jetzt erhaltenen Resultate, wo ich die flüchtigen Producte der nschlichen Excremente aus saurer Lösung isolirte, zeigen zur Genüge, dass die ichen Substanzen, die für jede Fäulniss charakteristisch sind, auch in dem Inhalt ; Dickdarms sich finden. Es sind dies die gleichen flüchtigen Fettsäuren und die ichen aromatischen Körper, wie sie durch Fäulniss des Eiweisses ausserhalb des nschlichen Körpers erhalten wurden. Auch in anderer Richtung sind die bis zt erhaltenen Resultate von grossem Interesse. Das Skatol z. B. ist ein constanter standtheil der menschlichen Excremente, fehlt aber in denen des Hundes. Durch :schieden modificirte Fäulnissversuche ist es mir nicht gelungen, Skatol zu winnen. Es zeigt dies deutlich, dass für jede Thierspecies ganz bestimmte Verhältse auch für die Darmfäulniss maassgebend sind. Die Untersuchung der flüchtigen ısen, sowie der nicht flüchtigen Bestandtheile der Excremente wird gewiss noch anche für die Lehre von der Verdauung wichtige Thatsache bringen. Man wird ınn mit sichererer Aussicht auf Erfolg, auch mit geringeren Mengen, die chemische ntersuchung des Dünndarminhaltes anstellen können. So unangenehm und mühe- ɔll derartige Untersuchungen auch sind, so wird man sich der Ansicht nicht verhliessen können, dass nur auf diese Weise die richtige Einsicht in die Zersetzungsrgänge im Darme und somit in den ganzen Stoffwechsel unter normalen und thologischen Verhältnissen gewonnen werden kann.

Nenki's Laboratorium in Bern.

---

# Bildung des Melamins aus Guanidin

von

## M. Nencki.

Journ. prakt. Chem. 17, 235.

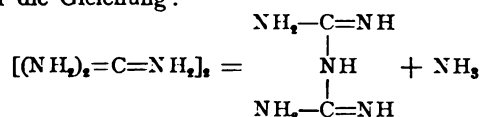
Wird kohlensaures Guanidin in wenig heissem Wasser gelöst und mit etwa n gleichem Gewichte Phenol in einem offenen Kolben auf dem Wasserbade erırmt, so entweicht Kohlensäure, indem das Phenol die erstere aus dem kohlenıuren Guanidin austreibt. Wenn die Kohlensäureentwickelung nachgelassen hat ınd das Erhitzen des Gemisches dann auf dem Sandbade fortgesetzt wird, so steigt llmählich die Temperatur der Flüssigkeit und es entweicht hauptsächlich das zugesetzte Wasser, bis die Temperatur etwa 140° erreicht hat, wo nunmehr auch das Entweichen von Ammoniak bemerkbar wird. Zwischen dieser unteren Temperaturrenze und dem Siedepunkte des Phenols ist bei allmählichem Steigen des Quecklberfadens die Ammoniakentwickelung sehr reichlich und wird durch die Umandlung des Guanidins zu Melamin verursacht. Um den letzteren Körper auf esem Wege zu erhalten, habe ich es zweckmässig gefunden, die Schmelze eine

halbe Stunde lang auf 160° zu erhalten. Nach dem Erkalten wird sie in wenig heissem Wasser gelöst und von einem darin unlöslichen amorphen Körper filtrirt. Aus dem Filtrate krystallisirt beim Erkalten das Melamin aus. Um es völlig abzuscheiden, wird das Filtrat mit Natronlauge im Ueberschusse versetzt. Das so ausgefällte und auf dem Filter mit kaltem Wasser abgewaschene Melamin ist nach ein-, höchstens zweimaligem Umkrystallisiren aschefrei und analytisch rein, wie aus folgenden Zahlen hervorgeht:

0.2388 g der Substanz gaben 0.250 g $CO_2$ und 0.1070 g $H_2O$ oder 28.94 Proc. C und 4.97 Proc. H. Die Formel $C_3N_6H_6$ verlangt 28.57 Proc. C und 4.77 Proc. H.

Ausserdem habe ich mich durch Vergleich dieses Melamins mit dem nach Liebig aus Melam erhaltenen, von der Identität beider überzeugt. Aus 40 g kohlensauren Guanidins erhielt ich nach diesem Verfahren 8.2 g Melamin.

Was die Bildung des Melamins in dieser Reaction betrifft, so kann man sich erstens denken, dass das Guanidin unter Abspaltung von Ammoniak in Cyanamid und dieses durch Atomverschiebung in die trimolekulare Verbindung übergeht, oder auch zweitens, dass drei Moleküle Guanidin ohne Bildung des Cyanamids als intermediäres Product nach der Gleichung: $[(NH_2)_2{=}C{=}NH]_3 = C_3N_6H_6 + 3NH_3$ in Melamin übergehen. Die Reaction hätte ihr vollkommenes Analogon in der Umwandlung des Harnstoffes in Cyanursäure: $[(NH_2)_2{=}CO]_3 = C_3O_3N_3H_3 + 3NH_3$. Von der letzteren Vorstellung ausgehend, habe ich, jedoch ohne Erfolg, nach einem dem Biuret entsprechenden Derivat des Guanidins gesucht, dessen Bildung und molekulare Structur die Gleichung:

$$[(NH_2)_2{=}C{=}NH_2]_2 = \begin{array}{c} NH_2{-}C{=}NH \\ | \\ NH \\ | \\ NH_2{-}C{=}NH \end{array} + NH_3$$

veranschaulicht. Bei vorsichtigem Erhitzen von Guanidin mit Phenol bis zur Ammoniakentwickelung konnte ich in den vom auskrystallisirten Melamin filtrirten Laugen nach Entfernung des Phenols nur noch unverändertes kohlensaures Guanidin nachweisen.

Gelegentlich des Melamins möchte ich noch der Bildung eines zweiten, neuen schwefelsauren Salzes desselben Erwähnung thun. Wird Melamin in überschüssiger verdünnter Schwefelsäure in der Wärme gelöst, so krystallisirt beim Erkalten in langen Nadeln ein schwefelsaures Salz von der Zusammensetzung: $(C_3N_6H_6)_2SO_4H_2 + 2H_2O$ aus, welches von Drechsel[1]) und von J. H. Jäger[2]) analysirt wurde. Löst man jedoch dieses Salz in der nöthigen Menge warmer, mit dem doppelten bis vierfachen Volumen Wasser verdünnter englischer Schwefelsäure auf, so krystallisirt in kurzen, wohl ausgebildeten rhombischen Prismen ein saures Salz von der Zusammensetzung: $C_3N_6H_6SO_4H_2$ aus. Dieses Salz enthält kein Krystallwasser und wird schon durch Wasser zersetzt. In heissem Wasser gelöst, krystallisirt es nicht mehr aus, sondern man erhält statt dessen beim Erkalten der Lösung die langen

---

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **11**, 284.

[2]) Ber. **9**, 1554. — Dieser Band S. 233.

Nadeln des neutralen Salzes. Das saure Salz darf deshalb nicht auf dem Filter mit Wasser ausgewaschen werden. Die abgeschiedenen und zwischen Fliesspapier abgepressten Krystalle wurden nach dem Trocknen im Exsiccator über $SO_4H_2$ getrocknet und ergaben bei der Analyse folgende Zahlen:

0.1996 g der Substanz gaben 0.2110 g $SO_4Ba$ oder 36.29 Proc. $SO_3$, und 0.2198 g gaben 72.4 ccm N-Gas bei 13.5° und 728 mm Baromst. oder 37.02 Proc. N. Die Formel $C_3N_6H_6SO_4H_2$ verlangt 35.70 Proc. $SO_3$ und 37.50 Proc. N.

---

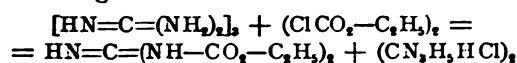
## Ueber Guanidinkohlensäureäther

von

### M. Nencki.

Journ. prakt. Chem. 17, 237.

Gelegentlich meiner Untersuchungen über die Guanamine habe ich auch das Verhalten des Chlorkohlensäureäthers gegen Guanidin in den Kreis derselben gezogen und gefunden, dass Guanidin, mit Chlorkohlensäureäther zusammengebracht, unter Temperaturerhöhung sich zu Guanidodikohlensäureäther und salzsaurem Guanidin gemäss der Gleichung:

$$[HN{=}C{=}(NH_2)_2]_3 + (ClCO_2{-}C_2H_5)_2 =$$
$$= HN{=}C{=}(NH{-}CO_2{-}C_2H_5)_2 + (CN_3H_5HCl)_2$$

umsetzt.

Guanidindikohlensäureäther mit alkoholischem Ammoniak auf 100° im zugeschmolzenen Rohre erhitzt, lieferte eine Base, der ich damals die Formel $C_8N_6H_{18}O_4$ beilegte und sie Guanolin[1]) nannte. Zur Verdoppelung der einfachen aus den Analysen hervorgehenden Formel $C_4H_9N_3O_2$ bin ich damals hauptsächlich dadurch veranlasst worden, dass die Base auch mit überschüssiger Schwefelsäure nur ein Salz von der Zusammensetzung $C_8N_6H_{18}O_4SO_4H_2$ lieferte, weshalb ich es als ein saures betrachtete und folglich die Formel $C_8N_6H_{18}O_4$ als den einfachsten Ausdruck für die Zusammensetzung der Base angesehen habe. Nachdem ich aber gesehen, dass das Melamin mit Schwefelsäure vorzugsweise das neutrale Salz bildet und wie unbeständig das saure schwefelsaure Melamin ist, hielt ich es für wünschenswerth, ein Salz des Guanolins mit einer einbasischen Säure zu analysiren und so endgültig dessen molekulare Zusammensetzung festzustellen. Ich habe daher von Neuem das Guanolin dargestellt und durch Auflösen der Base in wenig verdünnter Salpetersäure das in schönen rhombischen Säulen krystallisirende salpetersaure Salz bereitet.

Die Elementaranalyse dieses Salzes zeigte nun, dass der Base nicht die verdoppelte, sondern die einfache Formel $C_4N_3H_9O_2$ zukommt.

0.3349 g der über $SO_4H_2$ getrockneten Substanz gaben 0.305 g $CO_2$ und 0.1595 g $H_2O$ oder 24.83 Proc. C und 5.23 Proc. H. Die Formel $C_4N_3H_9O_2NO_3H$

---

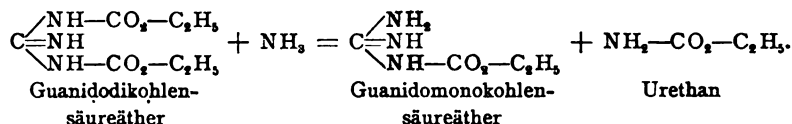
[1]) Ber. 7, 1589. — Dieser Band S. 89.

verlangt 24.74 Proc. C und 5.15 Proc. H, während die Formel $C_8N_6H_{18}O_4NO_3H$ 29.53 Proc. C und 5.84 Proc. H verlangt.

Dem entsprechend hat auch das früher von mir analysirte Platindoppelsalz des Guanolins die normale Zusammensetzung eines Platinsalmiaks, d. h. $(C_4H_9N_3O_2)_2$ $2HClPtCl_4$, und das schwefelsaure Salz ist ein neutrales, nach der Formel $(C_4H_9N_3O_2)_2SO_4H_2$ zusammengesetztes Salz.

Die Formel $C_3H_9N_3O_2$ des Guanolins ist aber die empirische Formel des Guanidinmonokohlensäureäthers: $C\begin{cases}NH_2\\ =NH\\ NH-CO_2-C_2H_5\end{cases}$ und ich zweifle nicht daran, dass die von mir als Guanolin bezeichnete Base wirklich dieser Aether ist. Seine Entstehung aus dem Guanidodikohlensäureäther beim Erhitzen mit Ammoniak erklärt sich dadurch sehr einfach:

$$C\begin{cases}NH-CO_2-C_2H_5\\ =NH\\ NH-CO_2-C_2H_5\end{cases} + NH_3 = C\begin{cases}NH_2\\ =NH\\ NH-CO_2-C_2H_5\end{cases} + NH_2-CO_2-C_2H_5.$$

Guanidodikohlensäureäther — Guanidomonokohlensäureäther — Urethan

Die von mir erhaltenen Resultate, verglichen mit denen, die kürzlich Bässler[1]) bei seinen Versuchen über das Verhalten des Chlorkohlensäureäthers zu Cyanamid erhielt, zeigen, dass zwischen Guanidin und Cyanamid in ihrem Verhalten gegen Reagentien eine bemerkenswerthe Uebereinstimmung besteht. Bei der Einwirkung von Chlorkohlensäureäther auf Cyanamid entsteht, ähnlich wie beim Guanidin, der Cyamidodikohlensäureäther, und ebenso wird der letztere durch Einwirkung von Ammoniak in Cyamidokohlensäureäther und Urethan gespalten. Diese Aehnlichkeit im Verhalten gegen Reagentien lässt auf eine Aehnlichkeit in der molekularen Structur der beiden Körper schliessen.

---

## Leichte Darstellung des Milchsäuretrichloräthylidenäthers

von

**M. Nencki.**

Journ. prakt. Chem. 17, 239.

Vor Kurzem haben O. Wallach und Th. Heymer[2]) durch Erhitzen von Trichlormilchsäure mit wassserfreiem Chloral das Chloralid synthetisch dargestellt. Auf ähnliche Weise haben sie ferner durch Erhitzen von syrupförmiger Milchsäure mit überschüssigem, wasserfreiem Chloral auf 150 bis 160° den Milchsäuretrichloräthylidenäther: $CH_3-CH<\genfrac{}{}{0pt}{}{COO}{O}>CH-CCl_3$, erhalten. Ich habe nun gefunden, dass

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **16**, 125.

[2]) Ber. **9**, 545.

dieser Aether leicht in jeder beliebigen Menge erhalten werden kann, wenn Chloralhydrat in der äquivalenten Menge syrupförmiger Milchsäure durch Erwärmen auf dem Wasserbade gelöst wird und der Lösung etwa das gleiche Gewicht wie das des angewendeten Chlorals concentrirter englischer Schwefelsäure zugesetzt wird. Die Flüssigkeit wird trübe, erwärmt sich beträchtlich und nach Wasserzusatz scheidet sich der Aether als ein schweres Oel zu Boden. Durch Waschen mit Wasser wird die Schwefelsäure entfernt und der Aether über Chlorcalcium getrocknet, wobei er meistentheils krystallinisch erstarrt. Der Destillation unterworfen, ging der Aether bis auf den letzten Rest zwischen 218 bis 220° bei 714 mm Bst. über. Die Elementaranalyse des Aethers ergab mit der Formel $C_5 Cl_3 O_3 H_5$ übereinstimmende Zahlen (gef. 27.6 Proc. C, 2.62 Proc. H und 48.61 Proc. Cl; die obige Formel verlangt 27.33 Proc. C, 2.28 Proc. H und 48.52 Proc. Cl).

Bern, im März 1878.

---

## Bemerkung zu der Notiz[1]) des Herrn Kühne: „Zur Geschichte der feuchten Gaskammern"

von

**M. Nencki.**

Journ. prakt. Chem. 17, 288

Die betreffende Aeusserung Pasteur's lautet wörtlich:

„On aurait encore plus de facilité en se servant de lentilles que j'avais commandées en Allemagne, il y a une dizaine d'années, au souffleur de verre si connu, Geissler. Ces lentilles m'a-t-on dit, mises en vente par ce dernier, se sont beaucoup répandues en Allemagne auprès des Micrographes."

[1]) Journ. prakt. Chem. **17**, 240. — Die Notiz von W. Kühne ist folgende. Im vorigen Hefte Journ. f. prakt. Chem. S. 82 (vergl. diesen Band S. 361) ist der in Deutschland üblichen Benennung der feuchten Kammer mit capillarem Objectraume „nach Recklinghausen" die Aeusserung Pasteur's vom Jahre 1876 entgegengehalten, dass jener Apparat zuerst nach seinen (Pasteur's) Angaben von Geissler verfertigt worden. Ich halte mich um so mehr zu einer Berichtigung dieser Notiz für verbunden, als ich es gewesen bin, der Herrn Pasteur im Jahre 1867 mit der damals in Deutschland bereits vielfach benutzten feuchten Gaskammer bekannt machte und die Zusendung einiger Exemplare an ihn aus Geissler's Werkstätte in Berlin vermittelte. Da die Prioritätsfrage einmal angeregt worden, muss ich hinzufügen, dass Geissler das kleine, wichtige Instrument, welches zuerst mikroskopische Beobachtungen in reinen Gasen und unter vollkommenem Abschlusse befindlicher Objecte gestattete, nach Recklinghausen's Angaben im Frühjahr 1865 anfertigte; ich bin in der Lage, dies genau anzugeben, weil sich im Novemberheft des Virchow'schen Archivs von 1865 (S. 428) eine andere von mir benutzte feuchte Gaskammer abgebildet findet, welche Geissler erst nach der Construction der Recklinghausen'schen hergestellt hatte. — Heidelberg, 10. März.

Also zu deutsch:

„Es würde noch leichter gehen, wenn man sich der Linsen bedienen wollte, welche ich vor etwa zehn Jahren in Deutschland bei dem berühmten Glasbläser Herrn Geissler bestellt hatte. Man hat mir gesagt, dass diese Linsen, durch den letzteren zum Verkauf gebracht, sich in Deutschland bei den Mikrographen sehr verbreitet haben."

Man braucht mit Herrn Kauffmann diese Aeusserung nicht so zu interpretiren, als ob Herr Pasteur die Priorität dieser Erfindung für sich in Anspruch nähme.

---

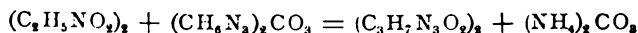
# Ueber eine neue Synthese des Glycocyamins

von

**M. Nencki** und **N. Sieber.**

Journ. prakt. Chem. 17, 477.

Bekanntlich machte Strecker[1]) die Beobachtung, dass Glycocoll und Cyanamid, in wässeriger Lösung mit einigen Tropfen Ammoniak versetzt, sich bei gewöhnlicher Temperatur nach einigen Tagen zu einem neuen Körper — dem Glycocyamin $= C_3N_3H_7O_2$ — vereinigen. Später haben auf ähnliche Weise Vollhard und auch Strecker[2]) aus Cyanamid und Sarkosin das Kreatin, und Salkowski sowie Baumann[3]) aus Cyanamid und Alanin das Alakreatin dargestellt. Wir haben nun gefunden, dass Glycocoll und kohlensaures Guanidin beim Erhitzen ihrer wässerigen Lösung sich glatt zu Glycocyamin und kohlensaurem Ammoniak, gemäss der Gleichung:

$$(C_2H_5NO_2)_2 + (CH_6N_3)_2CO_3 = (C_3H_7N_3O_2)_2 + (NH_4)_2CO_3$$

umsetzen. Das zweckmässigste Verfahren zur Bereitung des Glycocyamins auf diese Weise ist folgendes:

15 Gew.-Theile Glycocoll und 18 Gew.-Theile kohlensaures Guanidin werden in Wasser gelöst und in einem Kölbchen auf dem Sandbade gekocht. Sobald das Wasser bis auf geringen Rest verdampft ist, findet eine reiche Ammoniak- und Kohlensäureentwickelung statt, wobei die Temperatur der Schmelze auf etwa 140° ansteigt. Man entfernt das Kölbchen vom Sandbade, lässt erkalten und fällt durch Zusatz von Wasser das entstandene, schwer lösliche Glycocyamin. Die abgeschiedenen Krystalle werden abfiltrirt und das Filtrat von Neuem wie oben behandelt. Durch vier- bis fünfmalige Wiederholung dieser Operation wird nach und nach alles Glycocoll und kohlensaure Guanidin nach der obigen Gleichung zersetzt. Dieses Verfahren liefert schon ein reines weisses Product. Das zur Analyse verwendet

---

1) Compt. rend. **52**, 1212.

2) Ann. Chem. Pharm. **157**, 4.

3) Daselbst **167**, 83.

Präparat haben wir bereitet durch Auflösen des Glycocyamins, dem einige Tropfen Natronlauge zugesetzt wurden, Filtriren und Ansäuern des Filtrates mit Essigsäure. Beim Erkalten krystallisirt das Glycocyamin in mikroskopischen rhombischen Prismen aus. Doch erhielten wir auch beim langsamen Erkalten der wässerigen Lösung das Glycocyamin in Centimeter langen glashellen Nadeln. Die Elementaranalysen der über Schwefelsäure getrockneten Substanz ergaben mit der Formel $C_3H_7N_3O_2$ übereinstimmende Zahlen.

0.2708 g der Substanz gaben 0.3074 g $CO_2$ und 0.148 g $H_2O$ oder 30.95 Proc. C und 6.07 Proc. H.

Ferner 0.1715 g der Substanz gaben 0.1936 g $CO_2$ und 0.0944 g $H_2O$ oder 30.78 Proc. C und 6.10 Proc. H.

0.2233 g der Substanz gaben 74.5 ccm N-Gas bei 18° Temp. und 709 mm Barom. oder 35.9 Proc. N.

| | Versuch | | | | Theorie | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C | 30.95 | und 30.78 | Proc. | $C_3$ | 30.77 | Proc. |
| H | 6.07 | „ 6.10 | „ | $H_7$ | 5.94 | „ |
| N | — | „ 35.90 | „ | $N_3$ | 35.89 | „ |
| O | — | „ — | „ | $O_2$ | — | „ |

Das so erhaltene Glycocyamin betrachten wir mit dem nach der Strecker'schen Methode erhaltenen als identisch. Unser Präparat, ähnlich wie das von Strecker, ist in kaltem Wasser nur wenig löslich, leichter in heissem, unlöslich in Alkohol. Mit Schwefelsäure und Salzsäure erhielten wir die schön krystallisirenden, in Wasser leicht löslichen Salze. Das von uns analysirte, im Exsiccator über $SO_4H_2$ getrocknete salzsaure Glycocyamin enthielt 22.84 Proc. Chlor. Die Formel $C_3H_7N_3O_2HCl$ verlangt 23.12 Proc. Cl. Mit essigsaurem Kupfer gekocht, gab unser Glycocyamin einen blauen, aus mikroskopischen Krystallen bestehenden Niederschlag, der nach Strecker's Analysen nach der Formel $(C_3H_6N_3O_2)_2Cu$ zusammengesetzt ist. Zu verzeichnen wäre nur eine Differenz, die Löslichkeit des Glycocyamins in kaltem Wasser betreffend. Während Strecker angiebt, dass das Glycocyamin in 126 Theilen kalten Wassers sich löst, haben wir gefunden, dass ein Theil des nach unserem Verfahren bereiteten Glycocyamins erst von 227 Theilen Wasser bei 14.5° gelöst wird. Da wir jedoch in der Krystallform und dem übrigen Verhalten zwischen dem Strecker'schen und unserem Glycocyamin keinen merkbaren Unterschied fanden, so sind wir immerhin geneigt, die beiden Körper als identisch zu betrachten.

Man kann mit grosser Wahrscheinlichkeit annehmen, dass in dieser Reaction das Guanidin zunächst in Cyanamid und Ammoniak zerfällt. Dafür spricht die kürzlich in diesem Journale publicirte Beobachtung[1]), dass Guanidin mit Phenol, mit welchem es in keine Reaction tritt, auf 140° erwärmt, glatt in Melamin übergeht. Das Melamin entsteht dabei erst secundär durch Polymerisation des Cyanamids.

Nach vorläufigen Versuchen ist die Reaction zwischen kohlensaurem Guanidin und Amidosäuren eine sehr allgemeine und wir behalten uns die weitere Bearbeitung derselben vor.

[1]) Journ. prakt. Chem. **17**, 235.

Gelegentlich der Bereitung des Glycocyamins wurden wir auf einen Körper aufmerksam, der sich bildet, wenn wässerige Lösung von Glycocoll und kohlensaurem Guanidin auf dem Wasserbade concentrirt wird. Beim Erkalten der warm gesättigten Lösung krystallisirt diese Substanz in grossen, wasserhellen, rhombischen Tafeln aus. Die nähere Untersuchung derselben zeigte, dass sie ein Doppelsalz von Glycocoll und kohlensaurem Guanidin und nach der Formel $C_2H_5NO_2 + (CN_3H_6)_2CO_3 + H_2O$ zusammengesetzt ist. Dieses Salz schmilzt schon unter 100°, wobei es das Krystallwasser verliert. Mit kohlensaurem Kupfer erwärmt, giebt es kohlensaures Guanidin und Glycocollkupfer. In Wasser ist es sehr leicht löslich. Salpetersäure fällt daraus unter Kohlensäureentwickelung salpetersaures Guanidin, das abfiltrirt, über $SO_4H_2$ getrocknet und analysirt wurde.

0.1295 g der Substanz gaben 54 ccm N-Gas bei 15° und 714 mm Baromst. oder 45.01 Proc. N.

Die Formel $CN_3H_5NO_3H$ verlangt 45.90 Proc. N.

Ausserdem ergaben die Elementaranalysen dieses Doppelsalzes mit der Formel $C_2H_5NO_2 + (CN_3H_6)_2CO_3 + H_2O$ übereinstimmende Zahlen.

0.2591 g der über $SO_4H_2$ getrockneten Substanz gaben 0.2062 g $CO_2$ und 0.1673 g $H_2O$ oder 21.70 Proc. C und 7.18 Proc. H, und 0.2914 g der Substanz gaben 0.2325 g $CO_2$ und 0.1893 g $H_2O$ oder 21.76 Proc. C und 7.22 Proc. H.

Die obige Formel verlangt aber 21.97 Proc. C und 6.96 Proc. H.

Bern, im Juli 1878.

---

# Zur Kenntniss der Phenolbildung bei der Fäulniss der Eiweisskörper

von

**W. Odermatt.**

Inaug.-Diss. Bern. — Journ. prakt. Chem. 18, 249.

Das Phenol ist als Product der Fäulniss der Eiweisskörper zuerst von Baumann[1]) gefunden worden. Von Brieger[2]) ist es sodann als Product der Dickdarmfäulniss aus menschlichen Excrementen isolirt worden, wenn auch in minimaler Menge: aus 50 kg Fäces erhielt Brieger 0.2496 g Tribromphenol = 0.0708 g Phenol. — Nencki[3]), welcher zeigte, dass durch Schmelzen von Eiweissstoffen mit Kalihydrat alle die charakteristischen Fäulnissproducte gebildet werden, erhielt aus 40.2 g käuflichem Eiereiweiss 0.043 g oder 0.102 Proc. Phenol.

---

[1]) Zeitschrift für physiologische Chemie 1, 63.

[2]) Journ. f. prakt. Chem. [2] 17, 134. — Dieser Band S. 394.

[3]) Daselbst, S. 103. — Dieser Band S. 374.

Die letzten Untersuchungen von Dr. Brieger im hiesigen Laboratorium, sowie ie eben publicirte Abhandlung von Salkowski[1]) zeigen, dass die Phenolbildung esp. deren Ausscheidung bei Krankheiten eine ausserordentlich variable ist. Die lenge des in 24 Stunden vom gesunden Menschen ausgeschiedenen Phenols, die ormaler Weise etwa 0.015 g beträgt, kann bei gewissen Krankheiten, wie Peritonitis nd Septicämie, das Vierzigfache davon betragen. Die Kenntniss der Mengen des n Harne auftretenden Phenols bei Krankheiten lässt uns daher den Grad der Inensität der Fäulniss, die im Organismus unter diesen Verhältnissen stattfindet, eurtheilen und kann wahrscheinlich für gewisse pathologische Zustände als dianostisches Moment verwerthet werden. — Es war daher wünschenswerth, genauer ie Bedingungen kennen zu lernen, unter welchen Phenol bei der Eiweissfäulniss ntsteht. Auch war zu erwarten, dass je nach der Natur der Eiweisssubstanzen, r Dauer der Fäulniss, der Temperatur u. s. w. die Mengen des gebildeten Phenols riiren würden. — Die einzige hierauf bezügliche Angabe rührt von Baumann[2]) r, dass bei der Eiweissfäulniss mit Pankreas bei der Bruttemperatur nach 48 inden Phenol noch nicht nachweisbar ist; nach sechstägiger Fäulniss aber von 0.0 g frischem Pankreas mit 100.0 g nassem Fibrin in 250 ccm Wasser vertheilt, ielt Baumann 0.078 g Tribromphenol = 0.022 g Phenol. Ferner bemerkt der iche Autor, dass Phenol am reichlichsten aus denjenigen Flüssigkeiten erhalten rde, welche auch sehr viel Indol enthielten, eine Angabe, die, wie man unten s den von mir mitgetheilten Zahlen ersehen wird, unrichtig ist.

Ich habe auf Wunsch des Herrn Prof. Nencki Fäulnissversuche mit verschienen Eiweissstoffen und verschiedener Zeitdauer bei 40° C. und Luftzutritt ausführt und dabei die Quantitäten des gebildeten Phenols und Indols bestimmt. Das rfahren hierbei war im Allgemeinen folgendes:

Die faulende Flüssigkeit wurde in eine tubulirte Retorte gebracht und je nach m Gehalte an unzersetzter Eiweisssubstanz mit mehr oder weniger Essigsäure ansäuert, alsdann destillirt und zwar so lange, bis das übergehende Destillat durch romwasser nicht mehr getrübt wurde. — Bekanntlich wird das Phenol aus der ässerigen Lösung mit Bromwasser als Tribromphenol gefällt; doch auch auf Indol, ie ich gesehen habe, ist Bromwasser ein feines Reagens. Stark verdünnte wässerige dollösungen werden durch Bromwasser milchig getrübt und nach kurzer Zeit etzt sich ein gelblicher Niederschlag ab, der jedoch amorph ist und dadurch sich on den rhombischen Krystallnadeln des Tribromphenols unterscheidet. — Wenn in ner Probe des Destillates Bromwasser keine Trübung mehr erzeugte, wurde die estillation unterbrochen, das Destillat filtrirt, mit Kalilauge neutralisirt und mit dem leichen Volumen Aether geschüttelt. Nach dem Abdestilliren des Aethers bis auf inen kleinen Rest wurde der letztere in eine kleine tubulirte Retorte abgegossen, mit Wasser, dem einige Tropfen Kalilauge zugesetzt waren, vermischt und der letzte Rest des Aethers durch Hinstellen der Retorte in ein warmes Wasserbad verdunstet. Hierauf wurde der Retorteninhalt so lange auf dem Sandbade destillirt, event. unter

[1]) Virchow's Archiv **73**, 3. Heft, 409.
[2]) A. a. O., S. 64.

erneutem Zusatz von destillirtem Wasser, bis eine Probe des Destillats mit einem Tropfen rauchender Salpetersäure keine rothe Färbung mehr zeigte. Das in dem Destillat gelöste Indol wurde mit rother rauchender Salpetersäure gefällt. Der s abgeschiedene Farbstoff, der nach Nencki's[1]) Analysen die empirische Zusammensetzung $C_8H_7N_2O_2$ hat, wurde auf ein getrocknetes, gewogenes Filter gebracht und nach dem Trocknen über $H_2SO_4$ gewogen. Hieraus wurde die Menge des gebildeten Indols berechnet. Der erkaltete Retortenrückstand wurde nunmehr von Neuem mit destillirtem Wasser und verdünnter Schwefelsäure bis zur sauren Reaction versetzt und so lange destillirt, bis im Destillate durch Bromwasser kein Phenol mehr nachweisbar war. Das im Gesammtdestillat als Tribromphenol gefällte Phenol ergab nach dem Trocknen die Quantität des gebildeten Phenols. — Dabei ist nur zu beachten, dass beim Abdestilliren des Indols aus der alkalischen Lösung hinreichend Wasser zugesetzt wird, widrigenfalls sich das Indol krystallinisch im Kühlrohre absetzt und die quantitative Bestimmung beeinträchtigt.

Meine Versuche erstrecken sich über das Eiereiweiss, das Serumeiweiss, das Fibrin, das Eiweiss des Pankreas und des Muskelfleisches. — Das Eiereiweiss habe ich frisch bereitet durch Schlagen des Weissen der Hühnereier unter Wasser und Filtriren durch ein Tuch. Die Lösung wurde annähernd auf eine fünfprocentige gebracht. Im Mittel aus zwei genau stimmenden Bestimmungen enthielt die Lösung 4.77 Proc. trockener Eiweisssubstanzen. 5560 g dieser Lösung wurden in drei gleiche Theile getheilt, wovon jeder 87.43 g trockenes Eiweiss enthielt und mit 10 g frischem Ochsenpankreas versetzt $2^1/_2$, 7 und 28 Tage lang bei der Temperatur von 35 bis 40° digerirt. Das verdampfende Wasser wurde von Zeit zu Zeit nachgegossen. — Die Zersetzung trat hier verhältnissmässig spät ein, so dass ich bei der Destillation am dritten, sowie am siebenten Tage weder Indol noch Phenol fand. Daher liess ich die dritte Portion 28 Tage faulen, bis beim Erhitzen einer herausgenommenen Probe nur eine minimale Menge Eiweiss coagulirte. Die Flüssigkeit hatte einen intensiv stinkenden Geruch und von dem zugesetzten Pankreas war nichts mehr zu sehen. Ich isolirte nach der oben angegebenen Methode aus dieser Flüssigkeit 0.0997 g Indol und 0.09985 g Phenol.

Das Ochsenpankreas enthielt im Mittel aus zwei Bestimmungen 14.72 Proc. Albumin. Es wurden davon drei Proben aufgestellt und zwar je 500.0 g frischen, präparirten Ochsenpankreas; also 73.6 g trockener Eiweisssubstanz wurden mit 2000 ccm Wasser bei 40° digerirt, und zwar $1^1/_2$, 4 und 14 Tage lang. Schon nach eineinhalbtägiger Fäulniss erhielt ich sehr viel Indol und kein Phenol, nach vier Tagen 0.0348 g Indol und ebenfalls kein Phenol, nach vierzehntägiger Digestion noch weniger Indol, nämlich 0.0284 g. Die Menge des krystallinisch abgeschiedenen Tribromphenols war nicht wägbar. Es scheint, dass bei der Fäulniss des Drüseneiweisses relativ nur sehr wenig Phenol gebildet werde.

Als Serumeiweiss verwendete ich das käufliche Albumin aus Blut, das, bis zu constantem Gewichte getrocknet, 15.98 Proc. Wasser verlor und nach dem Glühen 11.41 Proc. Asche hinterliess. Je 100 g wurden davon mit 50 g frischem Ochsen-

[1]) Ber. 8, 723. — Dieser Band S. 116.

pankreas versetzt, im Ganzen also 80.87 g trockener und aschefreier Eiweisssubstanz, sodann mit 2000 ccm Wasser übergossen und 5, 7, 10 und 19 Tage bei 40° digerirt. Die hier für das Phenol erhaltenen Zahlen zeigen einen mit der Dauer der Zeit steigenden Werth. Während nach fünftägigem Digeriren die erhaltenen Krystalle des Tribromphenols nicht wägbar waren, so erhielt ich nach 7 Tagen 0.00516 g und nach 10 Tagen 0.1010 g und nach 19 Tagen 0.2946 g Phenol, die höchste Ziffer für Phenol, die ich überhaupt zu verzeichnen habe.

Nicht so hohe Zahlen erhielt ich bei der Fäulniss des Muskelfleisches, wovon je 450.0 g und 50.0 g frischen Pankreas, zusammen = 97.9 g trockener Eiweisssubstanz, mit 2000 ccm Wasser 2½, 8 und 17 Tage lang digerirt wurden. Auch hier, wie in allen anderen Versuchen, nahm die Menge des gebildeten Phenols mit der Dauer der Fäulniss zu: im Maximum nach 17 tägiger Fäulniss 0.0982 g Phenol.

Bei der Fäulniss des Blutfibrins erhielt ich in zwei Versuchen, wo im ersten 86.0 g Fibrin = 28.46 g trockener Eiweisssubstanz mit 86.0 g frischem Pankreas = 12.65 g trockener Proteïnsubstanz 6 Tage lang und 142.0 g Fibrin mit 142,0 g Pankreas, zusammen = 67.9 g trockenen Eiweisses, 12 Tage lang digerirten, nach 6 Tagen 0.00085 g Phenol und nach 12 Tagen 0.0122 g Phenol. — Das hierzu verwendete Fibrin wurde gewonnen, indem man das Fibrin des Ochsenblutes in Leinwandsäckchen so lange unter Wasser knetete, bis dieselben ganz farblos wurden.

Endlich muss ich bemerken, dass die von mir erhaltenen Zahlen absolut genommen ein wenig zu niedrig ausfallen, da nach der dreimaligen Extraction mit Aether noch immer etwas Indol und Phenol in der wässerigen Lösung zurückbleibt. Ich erhielt aber bei wiederholter Extraction mit Aether nur unwägbare Mengen dieser Substanzen.

Die bei den verschiedenen Versuchen erhaltenen Zahlen folgen in nachstehender Tabelle (S. 408):

Uebersieht man nun die angegebenen Zahlen, so ergiebt sich, dass die Menge des gebildeten Indols in den ersten 8 bis 12 Tagen wächst, sodann aber bei längerer Dauer der Fäulniss sichtlich abnimmt, was jedenfalls auf einer Verflüchtigung des Indols beruht. Die Menge des gebildeten Phenols nimmt dagegen mit der Zeit immer zu, so dass es den Anschein hat, als ob das Phenol in den faulenden Flüssigkeiten in einer nicht flüchtigen Form enthalten sei und sehr allmählich aus dem Eiweiss gebildet werde. Dieser Umstand ist von hohem Interesse. Er zeigt, dass die Indolbildung durchaus nicht parallel läuft mit der Phenolbildung, womit auch die von Brieger und Salkowski über die Indican- und Phenolausscheidung erhaltenen Zahlen bei Krankheiten übereinstimmen. Man kann annehmen, dass in denjenigen Krankheitsfällen, wo abnorm grosse Mengen Phenol in dem Harne ausgeschieden werden, im Darmrohr vor der Resorption eine sehr langdauernde Fäulniss stattfindet.

Die von mir erhaltene höchste Zahl für die Phenolbildung aus Eiweiss übersteigt die von Baumann[1]) angegebene ungefähr um das 16 fache. Die faule Flüssigkeit, aus welcher ich nach 19 tägiger Fäulniss 0.347 Proc. Phenol erhielt, war fast ganz

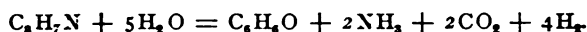
[1]) Zeitschr. f. physiolog. Chemie 1, 64.

| Eiweisssubstanzen | Dauer der Fäulniss | Menge des erhaltenen rothen Farbstoffes |
|---|---|---|
| **I. Hühnereiweiss.** | | |
| 1. 1833 ccm einer 4.77 proc. Eiweisslösung + 10.0 g Ochsenpankreas oder 87.434 g + 1.472 g = 88.906 g trockener Eiweisssubstanz | $2^1/_2$ Tage | 0 |
| 2. Desgleichen | 7 „ | 0 |
| 3. Desgleichen | 28 „ | 0.1390 g |
| **II. Ochsenpankreas.** | | |
| 1. 500.0 g Pankreas + 2000.0 ccm aq. dest. = 73.6 g Eiweisssubstanz (trockener) | $1^1/_2$ Tage | relativ viel |
| 2. Desgleichen | 4 „ | 0.0485 g |
| 3. Desgleichen | 14 „ | 0.0396 „ |
| **III. Bluteiweiss (käufliches).** | | |
| 1. 50.0 g Pankreas + 100.0 g Bluteiweiss = 80.87 g trockenen und aschefreien Eiweisses in 2 Liter aq. dest. gelöst | 5 Tage | 0.0655 g |
| 2. Desgleichen | 7 „ | 0.1458 „ |
| 3. Desgleichen | 10 „ | 0.172 „ |
| 4. Desgleichen | 19 „ | 0.0295 „ |
| **IV. Muskelfleisch.** | | |
| 1. 450.0 g präparirtes und zerhacktes Ochsenfleisch + 50.0 g Pankreas + 2000.0 ccm aq. dest. = 80.1 g + 7.36 g = 87.46 g trockener Eiweisssubstanz | $2^1/_2$ Tage | 0.1445 g |
| 2. Desgleichen | 8 „ | 0.0229 „ |
| 3. Desgleichen | 17 „ | 0.0122 „ |
| **V. Blutfibrin.** | | |
| 1. 86.0 g Pankreas + 86.0 g Fibrin + 215 ccm aq. dest. = 28.46 g + 12.65 g = 41.11 g trockener Eiweisssubstanz | 6 Tage | 0.0802 g |
| 2. 142.0 g Pankreas + 142.0 g Fibrin + 355 ccm aq. dest. = 47.0 g + 20.9 g = 67.9 g trockener Proteïnsubstanz | 12 „ | 0.1655 „ |

| e des tenen rom- aols | Menge des Indols | Menge des Phenols | Indol in Proc. | Phenol in Proc. |
|---|---|---|---|---|
| ) | o | o | o | o |
| ) | o | o | o | o |
| ;9 g | 0.0997 g | 0.0985 g | 0.1121 Proc. | 0.1107 Proc. |
| ) | relativ viel | o | relativ hoch | o |
| ) | 0.0348 g | o | 0.0472 Proc. | o |
| ·ägbare rom- :rystalle | 0.0284 „ | nicht berechenbar | 0.0385 „ | nicht berechenbar |
| llinisch rägbare ieln | 0.0470 g | nicht berechenbar | 0.058 Proc. | o |
| 31 g | 0.1046 „ | 0.00516 g | 0.13 „ | 0.0064 Proc. |
| 59 „ | 0.1234 „ | 0.1010 „ | 0.153 „ | 0.125 „ |
| )7 „ | 0.0211 „ | 0.281 „ | 0.025 „ | 0.347 „ |
| ) | 0.1037 g | o | 0.1185 Proc. | nicht berechenbar |
| 79 g | 0.0164 „ | 0.0249 g | 0.0187 „ | 0.0284 Proc. |
| 15 „ | 0.0087 „ | 0.0913 „ | 0.0099 „ | 0.112 „ |
| 30 g | 0.0575 g | 0.00085 g | 0.1398 Proc. | 0.0206 Proc. |
| 32 „ | 0.119 „ | 0.0122 „ | 0.175 „ | 0.0179 „ |

geruchlos, und wie auch die Indolbestimmung ergab, waren in ihr nur minimale Mengen davon.

Der Umstand, dass mit dem Abnehmen des Indols die Menge des Phenols ansteigt, liess an die Möglichkeit denken, dass vielleicht das Phenol erst secundär aus dem Indol hervorgehe. Die Gleichung, wonach diese Umsetzung stattfände, wäre sehr einfach:

$$C_8H_7N + 5H_2O = C_6H_6O + 2NH_3 + 2CO_2 + 4H_2.$$

Ich habe daher 0.25 g reines Indol und 10.0 g frisches, präparirtes und fein zerhacktes Ochsenpankreas in einem Liter aq. dest. bei 40° sieben Tage lang stehen lassen. Die Fäulniss stellte sich hier sehr spät ein; erst am folgenden Tage, dem 12. Juni — nach ungefähr 18 Stunden —, war ein Theil der Drüsenstückchen auf die Oberfläche der Flüssigkeit gestiegen: ein Zeichen der beginnenden Fäulniss. Den 12. Juni um Mittag ergab sich folgender mikroskopischer Befund (Seibert'sches Immersionssystem, Ocular III, Immersion VII): in der Flüssigkeit sind nur molekular bewegliche, vereinzelte oder zu Diplococcen vereinte Coccen im Durchmesser von 0.5 bis 1.0 Mikrom., sodann ebenfalls nur molekular bewegliche, mit dem Flüssigkeitsstrome fliessende kurze Stäbchen von 3 bis 4 Mikrom. Länge; keine sich selbständig bewegende Bacillen und auch keine Streptobacterien oder Streptococcen. — Am 13. Juni, Vormittags 10 Uhr, lag auf der Oberfläche der Flüssigkeit eine Bacillenhaut; nunmehr zeigten sich auch Bacillen mit Eigenbewegung. — Den 14. Juni, Vormittags 10 Uhr, präsentirten sich lebhafte Bacillen. — Am 15. Juni, Vormittags 11 Uhr, hatte sich das Pankreas gesenkt; die Bacillen liessen nicht mehr so lebhafte Eigenbewegungen wahrnehmen. — Am 18. Juni, Abends 7 Uhr, ist der Indolgeruch verschwunden. — Den 19. Juni weist die neutral, eher sauer reagirende Lösung ganz kurze Stäbchen und Coccen mit nur molekularer Bewegung auf.

Die Lösung wird nun filtrirt und mit Kalilauge versetzt, um auffälliges Phenol zu binden. Das Destillat zeigt auf Zusatz von rother rauchender Salpetersäure eine ganz schwache Indolreaction, aber keinen rothen Niederschlag von Nitrosoindol. Der Retortenrückstand wird mit verdünnter $H_2SO_4$ versetzt und von Neuem in einer kleinen tubulirten Retorte destillirt; ich konnte jedoch aus dem Destillate durch Bromwasser kein Tribromphenol abscheiden. Phenol wird also aus Indol nicht gebildet; hingegen ergiebt sich aus dem Verhalten der Indollösung, dass das Indol fäulnisswidrig wirkt, und erst in dem Maasse, als sich dasselbe verflüchtigt, stellt sich allmählich die Fäulniss ein.

Nencki's Laboratorium in Bern.

# Ueber die Ausscheidung des dem Thierkörper zugeführten Phenols

von

Dr. F. Schaffer.

Journ. prakt. Chem. 18, 282.

Aus den Bestimmungen des Herrn Odermatt geht hervor, dass das Phenol relativ ein später auftretendes Product der Eiweissfäulniss ist und dass die Bildung des Indols bei der Fäulniss der des Phenols vorangeht. Beide Substanzen aber sind specifische Producte der Fäulniss. Durch die Einwirkung der Verdauungssäfte auf Eiweiss entstehen sie nach den Untersuchungen von Prof. Nencki nicht. Das im Darme entstandene Indol tritt im Harne als die indigbildende Substanz und das Phenol, nach Baumann, als Phenolätherschwefelsäure: $C_6H_5—O—SO_3H$, auf. Eine vermehrte Indigurie lässt demnach auf eine intensivere Darmfäulniss in ihrem ersten Stadium schliessen, während eine vermehrte Phenolausscheidung anzeigen würde, dass das Eiweiss längere Zeit im Darme verweilt und dort der Fäulniss unterliegt. Um aber aus der Menge des im Harne ausgeschiedenen Phenols die Intensität dieser protrahirten Darmfäulniss beurtheilen zu können, müsste erst festgestellt werden, ob alles in einem bestimmten Zeitraume im Darme befindliche Phenol durch die Nieren als Phenolätherschwefelsäure ausgeschieden wird. Diese Frage könnte leicht durch Fütterung von Thieren mit bestimmten Mengen Phenol und Bestimmung des darauf im Harne ausgeschiedenen Phenols beantwortet werden. Es ist dies der Gegenstand der folgenden Mittheilung.

Zu derartigen Versuchen eignen sich vorzüglich die Hunde, schon aus dem Grunde, weil ihr Harn, mit verdünnter Schwefelsäure destillirt, in der Regel keine oder nur minimale Mengen Phenol liefert.

Der von mir benutzte Hund war 20 kg schwer und seine tägliche Nahrung bestand in einem halben Pfund frischem Ochsenfleisch, einem Pfund Brot und beliebiger Menge Wasser. Der Hund war so dressirt, dass er täglich Morgens und Abends seinen Harn in ein untergehaltenes Gefäss entleerte, so dass nicht ein Tropfen verloren ging. Auch war der Hund gewohnt, seinen Koth ebenfalls in ein untergehaltenes Gefäss zu entleeren. Das Phenol wurde dem Hunde in einer 1.5 pro Mille haltigen wässerigen Lösung mit etwas Milch vermischt verabreicht, welche er auch ohne Widerwillen zu sich nahm. Aus je 50 ccm dieser Lösung wurden mit Bromwasser bei der ersten Bestimmung 0.2676 g und bei der zweiten Bestimmung 0.2646 g Tribromphenol gefällt.

Somit kommen auf 100 ccm 0.5322 g Tribromphenol oder 0.1511 g Phenol.

Die Bestimmung des Phenols im Harne geschah auf folgende Weise; eine abgemessene Menge Harns wurde mit so viel verdünnter Schwefelsäure versetzt, dass der Harn etwa 3 Proc. $SO_4H_2$ enthielt, sodann aus einer tubulirten Retorte so lange

destillirt, bis in einer Probe durch Bromwasser keine Trübung entstand. Aus dem Gesammtdestillate wurde das Phenol als Tribromphenol gefällt, auf ein getrocknetes gewogenes Filtrum gebracht, ausgewaschen und sodann im Exsiccator bis zu constantem Gewichte getrocknet.

Zunächst musste festgestellt werden, wie viel von dem gefütterten Phenol im Harne wieder erscheint.

Versuch I.

1. Tag. Der Harn von 24 Stunden vor der Fütterung mit Phenol giebt mit Brom gar keinen Niederschlag.
2. Tag. Der Hund mit 200 ccm der Phenollösung = 0.3023 g Phenol gefüttert. Harnmenge 1250 ccm (!). Niederschlag von Tribromphenol 0.6563 g.
3. Tag. Harnmenge 530 ccm. Bromniederschlag 0.0074 g.
4. Tag. Harnmenge 380 ccm. Unwägbare Menge $C_6H_2Br_3OH$.
5. Tag. Harnmenge 300 ccm. Kein $C_6H_2Br_3OH$.

Sämmtliches ausgeschiedene $C_6H_2Br_3OH$ = 0.6637 g = 0.1884 g Phenol oder 62.35 Proc. des gefütterten Phenols. Der am Tage der Phenolfütterung gelassene Koth wurde mit Wasser angerührt, mit verdünnter $SO_4H_2$ angesäuert und destillirt; im Destillat war kein Phenol nachweisbar.

Versuch II.

1. Tag. Kein Phenol im Harne.
2. Tag. Eingabe von 100 ccm der Lösung = 0.1511 g Phenol. Harnmenge 730 ccm. Bromniederschlag 0.3309 g = 0.0939 g. Phenol = 62.19 Proc.
3. Tag. Harnmenge 300 ccm. Unwägbare Spuren von $C_6H_2Br_3OH$.
4. Tag. Harnmenge 330 ccm. Kein Phenol im Harne.

Somit ist erwiesen, dass von dem eingegebenen Phenol nur etwas über 60 Proc. als Phenolätherschwefelsäure ausgeschieden wird. Das Deficit ist ein viel zu grosses, um zu der Annahme zu berechtigen, dass es nur durch derartigen physiologischen Versuchen eigene Fehlerquellen verursacht werde, und es fragte sich nun zunächst, was aus der kleineren Hälfte des Phenols im Organismus geworden sei.

Ueber die Oxydationsproducte des Phenols liegen Angaben von Wichelhaus vor[1]), welcher Phenol mit Chromsäure oxydirte und daraus Phenochinon erhielt. Man konnte daher vermuthen, dass ähnlich wie durch Chromsäure das Phenol auch im Thierkörper oxydirt werde. Da nun nach den Untersuchungen von Baumann und Herter eine grosse Anzahl aromatischer Substanzen dem Thierkörper einverleibt als gepaarte Aetherschwefelsäuren ausgeschieden werden, so konnte man erwarten, dass auch das Oxydationsproduct des Phenols im Thierkörper als gepaarte $SH_2O$ ausgeschieden wird. Es wäre dies leicht experimentell zu entscheiden. Im Mittel aus mehreren Bestimmungen durfte ich erfahren, wie viel gepaarte Aetherschwefelsäure mein Hund normaler Weise ausscheidet. An dem Tage, wo der Hund Phenol erhielt, müsste die vermehrte gepaarte $SH_2O_4$ genau dem im Harne ausgeschiedenen Phenol entsprechen. Ein Ueberschuss der gepaarten $SH_2O_4$ über die normale un-

[1]) Ber. 5, 248 u. 846.

iber die dem ausgeschiedenen Phenol entsprechende Menge würde andeuten, dass ausser dem Phenol noch eine andere Substanz und zwar als gepaarte $SH_2O_4$ im Harne sich vorfindet. Ich habe daher einen neuen Fütterungsversuch mit Phenol am Hunde ausgeführt und zwar so, dass während der ganzen Versuchszeit sowohl die Schwefelsäure der Salze, als auch die gepaarte nach der Methode von E. Baumann[1]) bestimmt wurde: ich fällte aus je 50 ccm des mit Essigsäure angesäuerten Harns durch Zusatz von $BaCl_2$ im Ueberschuss zuerst die $SH_2O_4$ aus den im Harne vorhandenen Sulfaten, und dann aus dem mit den Waschwassern vereinigten und noch mit etwas verdünnter Salzsäure versetzten Filtrate, das ich auf dem Sandbade bis zum Aufkochen erwärmte, die gepaarte Schwefelsäure als schwefelsaures Baryum.

Das Ergebniss ist folgendes:

1. Tag. Harnmenge 440 ccm.
 Das Destillat giebt keinen Niederschlag mit Brom.
 $SH_2O_4$ aus Salzen . . . . . . 1.2244 g.
 „ gepaart . . . . . . . . 0.1166 „

2. Tag. Dem Hunde 0.1511 g Phenol gefüttert.
 Harnmenge 783 ccm.
 Niederschlag von $C_6H_2Br_3OH$ aus 683 ccm Harn = 0.2331 g = 0.0662 g Phenol oder auf die Gesammtmenge des Harns, 783 ccm, berechnet 0.0759 g Phenol oder 50.23 Proc.

 Schwefelsäurebestimmungen:
 a[2]). $SH_2O_4$ aus Salzen . . . . . . 1.3219 g.
 „ gepaart . . . . . . . 0.2680 „
 b. $SH_2O_4$ aus Salzen . . . . . . 1.4513 g
 „ gepaart . . . . . . . 0.2720 „

3. Tag. Harnmenge 530 ccm.
 Unwägbare Spuren von $C_6H_2Br_3OH$.
 $SH_2O_4$ aus Salzen . . . . . . 1.2982 g.
 „ gepaart . . . . . . . 0.1288 „

4. Tag. Harnmenge 300 ccm.
 Kein Phenol im Harne.
 $SH_2O_4$ aus Salzen . . . . . . 1.0975 g.
 „ gepaart . . . . . . . 0.0883 „

Subtrahiren wir die Summe der am ersten und vierten Tage (an welchen also kein Phenol im Harne nachweisbar war) von der Summe der im Mittel am zweiten Tage und der am dritten Tage ausgeschiedenen gepaarten Schwefelsäure, so finden wir, dass während der Ausscheidung des Phenols 0.1939 g Aetherschwefelsäure mehr ausgeschieden wurden, als dies normaler Weise geschah. Dem ausgeschiedenen Phenol würden 0.0791 g $SH_2O_4$ entsprechen. Es ergiebt sich also hieraus, dass in der That an dem Tage, wo der Hund Phenol erhielt, mehr gepaarte Schwefelsäure ausgeschieden wurde, als zur Deckung des im Harne ausgeschiedenen Phenols nothwendig war. Um sicher zu sein, dass dieses Plus von gepaarten Schwefelsäuren nicht Zufälligkeit war, habe ich zwei Tage später dem Hunde von Neuem 0.1511 g

[1]) Zeitschrift für physiolog. Chem. 1, 71.

[2]) Um die Fehlergrenze bei derartigen Bestimmungen kennen zu lernen, wurden an dem Phenoltage zwei Bestimmungen in je 50 ccm Harn ausgeführt.

Phenol eingegeben und die Schwefelsäuren der Salze, sowie die Aetherschwefelsäuren bestimmt. Da ferner in einer kürzlich publicirten Abhandlung Prof. E. Salkowski[1]) die Vermuthung ausgesprochen hat, dass das Phenol im Thierkörper vielleicht zu Oxalsäure oxydirt werde, so wurde in dieser letzten Versuchsreihe ausserdem noch täglich die Oxalsäure bestimmt. Es geschah dies, weil sich die in den Handbüchern der zoochemischen Analyse empfohlene Bestimmungsmethode nach Schultzen[2]) als unbrauchbar erwies, auf folgende Weise: 100 ccm des zuvor durch unbefeuchtetes Filter filtrirten Harnes wurden mit Essigsäure (2 bis 5 ccm) angesäuert und mit etwa 1 ccm einer 10 proc. Lösung von essigsaurem Kalk versetzt. Nach 24 stündigem Stehen wurde der gefällte oxalsaure Kalk auf gewogenes Filtrum gebracht, mit Wasser bis zum Verschwinden des Cl ausgewaschen, bei 110° getrocknet und gewogen. Die minimalen Mengen des in den charakteristischen Krystallformen abgeschiedenen Kalkoxalates waren zu gering, um sie in Kalkcarbonat überzuführen. So ergaben sich auf die 24 stündige Harnmenge berechnet die Resultate wie folgt:

1. Tag. Harnmenge 340 ccm.
Kein Phenol im Harne.
$SH_2O_4$ aus Salzen . . . . . . 1.1935 g.
" gepaart . . . . . . . 0.0775 "
Oxalsaurer Kalk . . . . . . . 0.0597 "
oder Oxalsäure . . . . . . . 0.0367 "

2. Tag. Eingabe von 0.1511 g Phenol.
Harnmenge 590 ccm.
Niederschlag mit Brom = 0.2929 g = 0.0937 g $C_6H_5OH$ oder 62.01 Proc.
Schwefelsäurebestimmungen:
a. { $SH_2O_4$ aus Salzen . . . . . . 0.9569 g.
" gepaart . . . . . . . 0.2456 "
b. { $SH_2O_4$ aus Salzen . . . . . . 1.0377 "
" gepaart . . . . . . . 0.2298 "
Oxalsaurer Kalk . . . . . . . . . . 0.0408 "
oder Oxalsäure . . . . . . . . . . 0.0252 "

3. Tag. Harnmenge 375 ccm.
Bromniederschlag 0.0369 g (mit dem Phenol des 2. Tages berechnet).
$SH_2O_4$ aus Salzen . . . . . . 0.9455 g.
" gepaart . . . . . . . 0.0964 "
Oxalsaurer Kalk . . . . . . . 0.0552 "
oder Oxalsäure . . . . . . . 0.0340 "

4. Tag. Harnmenge 240 ccm.
Unwägbare Spuren Phenol.
$SH_2O_4$ aus Salzen . . . . . . 1.0787 g.
" gepaart . . . . . . . 0.0878 "
Oxalsaurer Kalk . . . . . . . 0.0305 "
oder Oxalsäure . . . . . . . 0.0188 "

Aus diesen Zahlen geht für die Tage, wo Phenol ausgeschieden wurde, auf gleiche Weise, wie oben berechnet, ein Ueberschuss an gepaarter Schwefelsäure von

[1]) Virchow's Archiv f. pathol. Anat. etc. **73.** 1878.

[2]) Reichert u. du Bois-Reymond's Archiv 1869, S. 719.

0.1688 g hervor. Dem im Harne gefundenen Phenol entsprechen 0.0977 g Aetherschwefelsäure; somit haben wir auch hier in Bezug auf die ausgeschiedene gepaarte $SH_2O_4$ das gleiche Resultat, wie beim vorhergehenden Versuche.

Da nun, wie aus den gefundenen Zahlen ersichtlich, nach Fütterung des Phenols gar keine Vermehrung der Oxalsäure im Harne sich zeigt, so kommen wir zu dem Schlusse, dass noch irgend eine andere aromatische Substanz als gepaarte Aetherschwefelsäure ausgeschieden werde. Diese Substanz herauszufinden, war jedoch vorläufig nicht möglich, namentlich weil dem Hunde keine grösseren Dosen Phenol gegeben werden konnten, ohne bei ihm toxische Zustände zu bewirken.

Nencki's Laboratorium in Bern.

---

## Die Oxydation des Acetophenons im Thierkörper

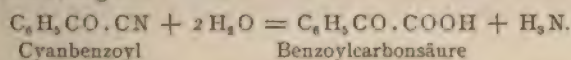
von

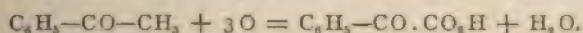
**M. Nencki.**

Journ. prakt. Chem. **18**, 288.

In dem zehnten Bande der Berliner chemischen Berichte beschrieben die Herren H. Hübner und K. Buchka[1]), sowie L. Claisen[2]) eine von ihnen durch Zersetzung des Cyanbenzoyls erhaltene Säure, welcher Kolbe[3]) mit Recht den Namen Benzoylcarbonsäure beilegt:

$$C_6H_5CO.CN + 2H_2O = C_6H_5CO.COOH + H_3N.$$

Cyanbenzoyl Benzoylcarbonsäure

Unsere Erfahrungen über die Oxydation aromatischer Verbindungen im Thierkörper haben mich auf die Vermuthung gebracht, dass die Benzoylcarbonsäure vielleicht durch Oxydation des Acetophenons im Thierkörper gebildet werde:

$$C_6H_5-CO-CH_3 + 3O = C_6H_5-CO.CO_2H + H_2O.$$

Allerdings erhielt Popoff[4]) bei der Oxydation des Acetophenons mittelst Chromsäure nur Benzoësäure und Kohlensäure. Doch habe ich erwartet, da die Oxydation im Thierkörper in schwach alkalischer Lösung und bei verhältnissmässig niedriger Temperatur vor sich geht, dass die Methylgruppe des Acetophenons nur zu Carboxyl oxydirt werde, ohne Abspaltung von Kohlensäure; auch konnte man erwarten, dass die entstandene Benzoylcarbonsäure im Thierkörper mit Glycocoll sich verbinden und so vor weiterer Zersetzung geschützt werde. Der Versuch hat nun gezeigt, dass diese Vermuthung nicht richtig war. Acetophenon wird ähnlich

---

[1]) Ber. **10**, 479.
[2]) Ber. **10**, 429 und 844.
[3]) Journ. prakt. Chem. [2] **16**, 29.
[4]) Ann. Chem. Pharm. **161**, 295.

wie durch Chromsäure im Thierkörper glatt zu Benzoësäure und Kohlensäure gemäss der Gleichung:

$$C_6H_5-CO-CH_3 + O_4 = C_6H_5-CO_2H + CO_2 + H_2O$$

oxydirt.

Ein Hund, 20 kg schwer, erhielt mit seiner gewöhnlichen Nahrung, aus Fleisch und Brot bestehend, 2 g reines (Siedepunkt 198° bei 718 mm Barometerstand) Acetophenon. Die Substanz erzeugte bei dem Hunde allem Anscheine nach heftige Leibschmerzen, worauf nach Acetophenon riechende Darmentleerungen stattfanden. Ein Theil davon entging also wahrscheinlich der Resorption. Der nach der Eingabe innerhalb 24 Stunden gelassene Harn wurde auf dem Wasserbade verdunstet, der syrupöse Rückstand nach dem Erkalten mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Aether extrahirt. Der ätherische Auszug hinterliess einen syrupösen Rückstand, der bald krystallinisch erstarrte. Die Krystalle, mikroskopisch untersucht, erwiesen sich als aus für die Hippursäure charakteristischen klinorhombischen Prismen bestehend.

Ich erhielt über 1 g des Rohproductes. Durch wiederholte Krystallisation aus heissem Wasser wurde die Säure bald rein und weiss erhalten. Sie war stickstoffhaltig und eine Kohlenwasserstoffbestimmung ergab mit der Formel der Hippursäure übereinstimmende Zahlen.

---

# Ueber die Einwirkung von Chloralhydrat auf Rhodanammonium

von

**M. Nencki** und **F. Schaffer.**

Journ. prakt. Chem. 18, 430.

Vor Kurzem erhielt einer von uns durch Erwärmen wässeriger Lösungen von Chloressigsäure und Rhodanammonium eine schön krystallisirende Säure von der Zusammensetzung: $C_3H_3NS_2O$, welche mit dem Namen Rhodaninsäure[1]) bezeichnet wurde. Der Umstand, dass Rhodaninsäure, mit schwach oxydirenden Agentien behandelt, Farbstoffe lieferte, veranlasste uns, das Verhalten anderer organischer Chlorverbindungen gegen Sulfocyansäure und ihre Salze zu untersuchen. Im Folgenden wollen wir über das Verhalten von Chloralhydrat gegen Rhodanammonium und eine dabei entstehende neue Verbindung berichten.

Wird Chloralhydrat in einem Kolben bis zur völligen Verflüssigung erwärmt und sodann mit der äquivalenten Menge trockenen und gepulverten Rhodanammoniums versetzt, so löst sich das letztere zum grossen Theil im Chloral auf, die Flüssigkeit

---

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] 16, 1. — Dieser Band S. 275.

bt sich braun und neben dem Chloralgeruch wird auch der nach Sulfocyansäure nerkbar. Es ist zweckmässig, jetzt den Kolben vom Sandbade zu entfernen und Zimmertemperatur sich die Reaction vollenden zu lassen. Versetzt man dann erkaltete Masse mit viel Wasser, so entsteht ein starker Niederschlag, der auf n Filter gesammelt und in heissem 90 proc. Alkohol gelöst wird. Beim Erkalten r heiss filtrirten alkoholischen Lösung krystallisirt die neue Substanz in langen, inzenden Nadeln, die, Anfangs gelb gefärbt, durch wiederholtes Umkrystallisiren s heissem Alkohol schneeweiss erhalten werden. In den alkoholischen Mutter-ugen bleibt noch ziemlich viel von dieser Substanz gelöst, jedoch vermengt mit ier anderen braunen, harzigen Materie, welche letztere in um so grösserer Menge tsteht, je länger Chloralhydrat mit Rhodanammonium erwärmt wurde. Die ialysen der in weissen Nadeln auskrystallisirten und über $SO_4H_2$ getrockneten ibstanz ergaben Zahlen, aus welchen sich die empirische Formel: $C_5H_6Cl_6N_3S$ rechnet.

0.3869 g der mit chromsaurem Blei verbrannten Substanz lieferten 0.2389 g $)_2$ und 0.0703 g $H_2O$ oder 16.84 Proc. C und 2.02 Proc. H.

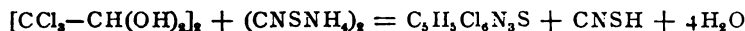
0.4601 g der Substanz gaben 49.5 ccm N bei 13° und 706 mm Barom. oder .79 Proc. N, ferner 0.2865 g gaben 31.5 ccm N-Gas bei 14° und 709 mm Barom. er 12.05 Proc. N.

0.3278 g Substanz mit Salpetersäure und salpetersaurem Silber im zuge-molzenen Rohre, bis kein Druck mehr vorhanden, erhitzt, gaben 0.8662 g AgCl er 60.61 Proc. Cl. Das Filtrat von AgCl sammt Waschwasser mit salpetersaurem ryum gefällt gaben 0.2169 g $BaSO_4$ oder 9.08 Proc. S.

0.2302 g der Substanz gaben 0.5651 g AgCl oder 60.59 Proc. Cl.

| | Versuch: | | Theorie: | |
|---|---|---|---|---|
| C | 16.84 Proc. | $C_5$ | 17.05 Proc. | C |
| H | 2.02 „ | $H_5$ | 1.42 „ | H |
| N | 11.79 und 12.05 Proc. | $N_3$ | 11.92 „ | N |
| Cl | 60.61 und 60.59 „ | $Cl_6$ | 60.51 „ | Cl |
| S | 9.08 Proc. | S | 9.09 „ | S |

Der Körper $C_5H_5N_3Cl_6S$ ist in Wasser unlöslich, nur wenig löslich in kaltem Alkohol und Aether; ziemlich leicht dagegen in heissem Alkohol. In wässerigen Mineralsäuren und Alkalien ist er ebenfalls unlöslich. Concentrirte Schwefelsäure löst ihn bei gelindem Erwärmen auf, wobei aber Chloral entweicht. In der Lösung bleibt Ammoniak an Schwefelsäure gebunden. Auch durch Erwärmen mit Kali- oder Natronlauge wird diese Substanz, jedoch unter völliger Zersetzung, gelöst. Trocken erhitzt schmilzt er nicht, sondern zersetzt sich unverkohlt etwa bei 180°. Durch Metalloxyde, Jod und andere Entschwefelungsagentien lässt sich diesem Körper der Schwefel nicht entziehen, ein Zeichen, dass das Schwefelatom darin nicht mit beiden Valenzen an Kohlenstoff gebunden ist. Die Entstehung dieser Substanz aus Chloralhydrat und Rhodanammonium veranschaulicht folgende Gleichung:

$$[CCl_3-CH(OH)_2]_2 + (CNSNH_4)_2 = C_5H_5Cl_6N_3S + CNSH + 4H_2O$$

und man könnte sie auffassen als eine molekulare Verbindung von Sulfocyansäure mit zwei Molekülen des bis jetzt unbekannten Trichloräthylidenimids: $CCl_3CH—NH$:

$$(CCl_3—CHNH)_2CNSH = C_5H_5Cl_6N_3S.$$

Dass der von uns erhaltene Körper aber nicht einfach ein sulfocyansaures Salz ist, geht schon daraus hervor, dass eine alkoholische Lösung mit Eisenchlorid nicht die für Rhodansalze so charakteristische rothe Färbung giebt. Es gelang uns auch nicht, auf anderem Wege daraus das Trichloräthylidenimid zu isoliren.

Bern, im November 1878.

---

# Ueber Phenolausscheidung bei Krankheiten und nach Tyrosingebrauch

von

**Dr. L. Brieger.**

Zeitschr. physiol. Chem. 2, 241; der Redaction zugegangen am 22. Juli. — Ausserdem wurde eine kurze Mittheilung über diese Arbeit im Centralbl. Med. Wiss. Nr. 30 publicirt.

Durch den Nachweis der flüchtigen Fettsäuren, des Indols, Skatols und Phenols in den menschlichen Excrementen [1]) — den gleichen Producten, wie sie auch bei der künstlichen Fäulniss erhalten werden — ist das Auftreten des Indigo und Skatolfarbstoffes, sowie des Phenols im Urin aufgeklärt. Ueber die Bildung sowie die gegenseitigen Beziehungen dieser für die Eiweissfäulniss charakteristischen Stoffe sind wir jedoch noch gänzlich im Dunkeln.

Jaffé [2]) und nach ihm Senator [3]) haben durch qualitative Bestimmungen der Indicanausscheidung einiges Licht in dieses Gebiet zu bringen versucht und sich bemüht, daraus etwaige diagnostische Anhaltspunkte zu gewinnen. Da aber die Harnfarbstoffe von verschiedenen Fäulnissproducten abstammen, die selbst wieder unter gewissen, noch unbekannten Bedingungen entstehen, so ist es unzulässig, aus der Menge des im Harne ausgeschiedenen Indigos allein die Intensität der Darmfäulniss bemessen zu wollen, zumal noch das Skatol, welches relativ viel reicher als das Indol bei der Darmfäulniss sich bildet, zum grössten Theil mit den Fäces wieder entleert wird. Ausserdem tritt Indol, wie Herr W. Odermatt im hiesigen Laboratorium gefunden, schon in einem früheren Stadium der Fäulniss — am zweiten bis

---

[1]) Journ. f. prakt. Chem., N. F., **17**, 124. — Dieser Band S. 388.

[2]) Ueber die Ausscheidung des Indicans unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen. Virchow's Archiv **70**.

[3]) Ueber Indican- und Kalkausscheidungen in Krankheiten. Med. Centralblatt 1877, Nr. 20, 21 u. 22.

erten Fäulnisstage — auf, das Phenol wird erst später, am vierten und folgenden age gebildet. Aus W. Odermatt's Versuchen geht ferner hervor, dass, während ıch längerer Fäulniss (2 bis 4 Wochen) in offenen Gefässen das Anfangs gebildete ıdol sich allmählich verflüchtigt und der stinkende Geruch der Flüssigkeit beeutend abgenommen hat, die Menge des Phenols immer mehr zunimmt. Aus 100 g luteiweiss entstanden im Maximum 0.3 g Phenol. Unter Berücksichtigung dieser hatsachen durfte man von quantitativen Bestimmungen des Phenolgehaltes im Urine oraussichtlich eine viel bessere Anschauung von dem Grade der Fäulniss gewinnen. uf Grund dessen habe ich bei verschiedenen Krankheiten Phenolbestimmungen usgeführt und theile dieselben jetzt schon mit, obwohl meine Beobachtungsreihe noch ine sehr kleine ist, weil durch dieselbe gewisse interessante Verhältnisse angedeutet verden, die aber erst durch viele Beobachtungen von anderer Seite, denen ein rösseres Material wie mir zur Verfügung steht, ihr Erledigung finden dürften.

Zur Darstellung des Phenols wurde stets die 24 stündige Urinmenge mit o viel concentrirter Schwefelsäure versetzt, dass dieselbe einer 5 proc. $SO_4H_2$-ösung entsprach, darauf so lange destillirt, als das Destillat durch Bromwasser etrübt wurde. Aus dem gesammten filtrirten Destillat wurde dann durch Zusatz on Bromwasser bis zur leichten Gelbfärbung das Phenol als Tribromphenol vollündig abgeschieden; nachdem die Flüssigkeit klar geworden, wurde dasselbe trirt, ausgewaschen und über $SO_4H_2$ oder $Cl_2Ca$ bis zum constanten Gewicht geocknet. — Um zu prüfen, ob die Menge der zugefügten $SO_4H_2$ einen Einfluss uf die Abscheidung des Phenols ausübe, habe ich in zwei Parallelversuchen gleiche ortionen desselben Urins als eine 1 proc. und als eine 5 proc. $SO_4H_2$-Lösung rarbeitet, wobei sich jedoch nur äusserst geringe Differenzen herausstellten.

700 ccm Harn als 1 proc. $SO_4H_2$-Lösung hergerichtet, gab 0.0430 Tribromhenol. Die gleiche Menge desselben Harns, als 5 proc. $SO_4H_2$-Lösung destillirt, ab 0.0470 Tribromphenol.

Aus je zwei gleichen Portionen von 1200 ccm eines anderen Urins gewann h von der

1 proc. $SO_4H_2$-Lösung 0.0504 Tribromphenol,
5 proc. „ „ 0.0487 „

Danach also ist es ziemlich gleichgültig, wie viel $SO_4H_2$ man zufügt. Doch habe ich für je 100 g Urin 5 g $SO_4H_2$ zugefügt, da die Austreibung des Phenols bei grösserem $SO_4H_2$-Gehalt rascher von Statten geht.

Beiläufig bemerken will ich noch, dass die Individuen, deren Urin ich untersuchte, möglichst indifferent behandelt wurden und jede Behandlung mit Salicyl- oder Carbolsäure selbstverständlich sorgfältigst vermieden wurde. Nach meinen Beobachtungen geht Phenol bei Personen, die damit behandelt wurden, in die Transsudate und Gewebsflüssigkeiten über. So fand ich bei einer an Puerperalfieber Verstorbenen, die mit Carbolausspritzungen in die Scheide behandelt worden, in 200 ccm Peritonealflüssigkeit 0.007 g Tribromphenol.

Nach J. Munk[1]) enthielt bei rein animalischer Kost sein 24 stündiger Urin

[1]) Zur Kenntniss der phenolbildenden Substanz im Harn. Pflüger's Archiv 12, 142.

0.006 g Tribromphenol, bei gemischter Kost stieg die Menge desselben bis 0.0165 g. Ich habe ebenfalls bei einigen gesunden, kräftigen Individuen, die gemischte Kost zu sich nahmen, Phenolbestimmungen ausgeführt und schwankten hierbei die Werthe von 0.013 bis 0.099 g Tribromphenol, in 24 Stunden entsprechend 0.003 bis 0.028 g, im Mittel 0.015 g Phenol.

Ausserdem habe ich bei allen Fällen auf Indican geprüft, sowie bei einzelnen Fällen $SO_4H_2$, sowohl die der Salze, als die gepaarten nach Baumann's[1]) Vorschrift bestimmt, um mir dadurch einen näheren Einblick in das gegenseitige Verhältniss der verschiedenen Ausscheidungsproducte zu verschaffen.

Am geringsten scheint die Phenolausscheidung bei allen jenen Zuständen zu sein, bei denen die allgemeine Blutbildung leidet, so besonders bei anämischen und cachektischen Individuen.

1. Frau B., 25 Jahre. Perniciöse Anämie. Stets sehr starke Indicanreaction. Der Harn, 2350 ccm, spec. Gew. 1011, enthält 2.44 $SO_4H_2$ als Salze, 0.302 als gepaarte $SO_4H_2$-Verbindung, 0.0778 g Tribromphenol = 0.220 g Phenol.
   2200 ccm Urin vom folgenden Tage, spec. Gew. 1012, enthält 0.0201 g Tribromphenol = 0.0056 g Phenol.

2. Bei einem 37 Jahre alten Manne mit perniciöser Anämie gab Bromwasser bei mehreren Bestimmungen im Destillat nur eine leichte Trübung, während die Indicanreaction ziemlich stark ausfiel.

3. Frau F., 37 Jahre. Acute Anämie nach starken Blutverlusten post partum:
   Urinmenge 2000 ccm, 1012 spec. Gew., Spuren von Phenol.
   Urinmenge 1300 ccm, spec. Gew. 1022, 0.0192 g Tribromphenol = 0.0054 g Phenol.

4. A. M., 23 Jahre. Chlorose. Schwache Indicanreaction:
   Urinmenge 2550 ccm, spec. Gew. 1016. $SO_4H_2$ als Salze 2.34, als gepaarte Verbindung 0.0130, enthält nur Spuren von Phenol.
   Urinmenge 1000 ccm, spec. Gew. 1016, giebt 0.0166 g Tribromphenol = 0.0047 g Phenol.

5. B. B., 44 Jahre. Scorbut. Keine Indicanreaction, Urin hellgelb, ohne Eiweiss.
   Urinmenge 2200 ccm, spec. Gew. 1016 g, Tribromphenol 0.028 = Phenol 0.0057.
   Urinmenge 2300 ccm, spec. Gew. 1016, Tribromphenol 0.0132 g = 0.0037 Phenol.

6. Bei einer 56 Jahre alten Frau mit Scorbut (Blutungen in Haut und Schleimhäuten, blutige Stuhlgänge, starke Anämie, Urin hellgelb ohne Eiweiss) war die Indicanreaction ziemlich deutlich, Bromwasser hingegen trübte das Destillat nicht einmal, wie ich mich an Urinportionen von verschiedenen Tagen öfter überzeugen konnte.

7. Elise J., 16 Jahre. Scrophulose, starke Drüsentumoren, besonders am Halse, amyloide Degeneration der Milz und Leber, hochgradige Anämie; abendliches Fieber bis oft über 39° C. Starker Eiweissgehalt des Urins mit schwachem

[1]) Ueber die Bestimmung der Schwefelsäure im Harn. Zeitschr. f. physiol. Chem., 1. 71.

Indicanreaction, häufig nur Spuren von Phenol im Urin nachweisbar, einmal war in der 24stündigen Urinmenge von 3100 ccm, spec. Gew. 1010, 0.0105 g Tribromphenol = 0.0020 g Phenol.

8. Frau W., 70 Jahre. Gallenblasenkrebs mit secundärem Lebercarcinom. Starker Icterus. Stuhlgang diarrhoisch, entfärbt; starke Cachexie und Abmagerung. Gewöhnlich waren nur Spuren von Phenol im ikterischen Urin vorhanden. Nur einmal fand ich in 1000 ccm (Tag- und Nachtmenge), spec. Gew. 1012 g, 0.0225 g Tribromphenol = 0.0063 g Phenol.

Die Mittelzahl aus diesen von uns erhaltenen Werthen beträgt somit, abgesehen von dem häufig nur spurenweisen Vorkommen, 0.0172 Tribromphenol = 0.0048 Phenol.

Auch bei einigen von mir untersuchten Magenkranken fand sich nur wenig Phenol, während die Jaffé'sche Reaction auf einen reichlichen Indicangehalt hindeutete.

9. R., 54 Jahre. Leidet schon seit 10 Jahren an chronischem Magenkatarrh (Appetitlosigkeit, Uebelkeiten ohne Erbrechen), in Folge dessen entwickelte sich allmählich hochgradige Anämie, ohne dass eigentliche Cachexie bestand. Anfangs verursachte Bromwasser nur eine geringe Trübung im Destillat, später, als Patient sich mehr erholt, sein Appetit zurückgekehrt, bekam ich bei einer Bestimmung seiner 24stündigen Urinmenge (900 ccm, spec. Gew. 1014) 0.0223 g Tribromphenol = 0.0061 g Phenol.

10. Bei einem anderen Patienten mit chronischem Magenkatarrh waren in verschiedentlichen Bestimmungen längere Zeit hindurch stets nur Spuren von Phenol nachweisbar.

11. Sp., 57 Jahre. Mit Ulcus ventriculi, zeigte einige Male nur Spuren von Phenol, einmal enthielten 1200 g, spec. Gew. 1020, 0.0107 g Tribromphenol = 0.0030 g Phenol.

12. B., 58 Jahre, Ulcus ventriculi:

2400 ccm Urin, spec. Gew. 1012, gab 0.0538 g Tribromphenol = 0.0152 g Phenol.

1500 ccm Urin, spec. Gew. 1012, gab 0.0478 g Tribromphenol = 0.0135 g Phenol.

Bei zwei Fällen von ausgesprochenem Magencarcinom stellte sich neben sehr intensiver Indicanreaction die Phenolausscheidung viel höher und übertraf die normal ausgeschiedenen Mengen um ein Bedeutendes.

13. P. W., 57 Jahre, Carcinoma ventriculi, häufiges galliges Erbrechen, starke Cachexie, Stuhlgang regelmässig:

Urinmenge 800 ccm, spec. Gew. 1025, Tribromphenol 0.1187 g = Phenol 0.0337 g.

Urinmenge 600 ccm, spec. Gew. 1025, Tribromphenol 0.0613 g = Phenol 0.0174 g.

14. J. W., 55 Jahre, Carcinoma ventriculi, kein Erbrechen, häufig Obstipationen, schmerzhafter Tumor längs des Pylorus fühlbar, starke Cachexie; geniesst nur wenig Milch und Bouillon:

Urinmenge 1300 ccm, spec. Gew. 1020, Tribromphenol 0.1212 g = Phenol 0.0344 g.

Urinmenge 1300 ccm, spec. Gew. 1020, Tribromphenol 0.3982 g = Phenol 0.1130 g.

Urinmenge 1000 ccm, spec. Gew. 1021, Tribromphenol 0.1291 g = Phenol 0.0366 g.

Urinmenge 1300 ccm, spec. Gew. 1026, Tribromphenol 0.2605 g = Phenol 0.0730 g.

Mehr normale Zahlenwerthe ergaben Phenolbestimmungen bei Leuten mit vorgeschrittener Lungenphthise, die sämmtlich mehr oder minder remittirendes Fieber darboten.

| | Urinmenge, | spec. Gew., | gab | Tribromphenol = | Phenol |
|---|---|---|---|---|---|
| 15. L., 22 Jahre: | | | | | |
| | 900 ccm | 1023 | „ | 0.0484 g | 0.0131 g |
| | 700 „ | 1022 | „ | 0.0567 „ | 0.0161 „ |
| 16. B., 32 Jahre: | | | | | |
| | 2300 „ | 1010 | „ | 0.0238 „ | 0.0066 „ |
| | 1750 „ | 1012 | „ | 0.0760 „ | 0.0215 „ |
| 17. M., 25 Jahre: | | | | | |
| | 1700 „ | 1010 | „ | 0.0443 „ | 0.0125 „ |
| 18. R., 21 Jahre: | | | | | |
| | 650 „ | 1033 | „ | 0.0391 „ | 0.0111 „ |
| | 600 „ | 1034 | „ | 0.0435 „ | 0.0123 „ |

19. Bei einem 13 jährigen Knaben mit Spondylitis und Phthisis pulmon. waren mehrfach nur Spuren von Phenol, während

20. bei einem anderen Knaben mit Spondylitis und hartnäckigen Obstipationen aus der 24 stündigen Urinmenge einmal 0.0420 g Tribromphenol = 0.0119 g Phenol gewonnen wurden.

Bei einigen Patienten mit acuten Exanthemen bot sich Gelegenheit, den Urin auf der Höhe des Ausschlags zu untersuchen.

21. Bei einer Frau mit Erythema exsudativum und

22. einem 10 jährigen Kinde mit Varicellen zeigte Bromzusatz zum Destillat des Urins nur leichte Trübung.

23. Ein 12 jähriges Mädchen mit Varicellen hatte in

550 ccm Urin, spec. Gew. 1012, Tribromphenol 0.0352 g = 0.0099 g Phenol.

500 ccm Urin, spec. Gew. 1011, Tribromphenol 0.0202 g = 0.0057 g Phenol.

24. Ein 13 Jahre alter Knabe hatte beim Ausbruch von Morbilli in der 24 stündigen Urinmenge 0.0222 g Tribromphenol = 0.0057 g Phenol.

25. Bei einem 8 Jahre alten war hingegen in dem beim Ausbruch der Morbilli entnommenen Urin keine Spur von Phenol zu bemerken.

Von Herz- und Leberkrankheiten habe ich, weil voraussichtlich für unseren Gegenstand ein interessantes Ergebniss nicht weiter zu erwarten stand, nur wenige Bestimmungen ausgeführt.

26. Ein Mann von 26 Jahren mit Mitralinsufficienz und hochgradigem Stauungsödem an den Beinen, sowie Ascites, hatte in einer 24 stündigen Menge von 800 ccm von 1022 spec. Gew. 0.0432 g Tribromphenol = 0.0122 g Phenol.

27. Bei einem Manne mit Lebercirrhose und starkem Ascites waren nur Spuren von Phenol im Urin vorhanden.

Von den eigentlichen Affectionen des Darmrohrs waren in zwei Fällen (28 u. 29) von Typhus, der eine in der ersten Woche mit Durchfällen, der andere in der dritten Woche mit täglichen normalen Entleerungen, trotz starker Indicanreaction, nur Spuren von Phenol bei wiederholten Prüfungen der 24 stündigen Urinmenge nachweisbar, während bei einem anderen Typhuskranken (30), einem schwächlichen Manne von 30 Jahren, in der zweiten Woche mit mässigen Diarrhöen sich folgende Zahlen ergaben:

Urinmenge 700 ccm, spec. Gew. 1024, Tribromphenol 0.0642 g = Phenol 0.0182 g.

Urinmenge 680 ccm, spec. Gew. 1025, Tribromphenol 0.0659 g = Phenol 0.0215 g.

31. W. mit heftigem Brechdurchfall, Cholera nostras, hatte neben starker Indicanreaction in:

500 ccm Urin, spec. Gew. 1021, Tribromphenol 0.2122 g = Phenol 0.0596 g.

1000 ccm Urin, spec. Gew. 1020, Tribromphenol 0.1972 g = Phenol 0.0555 g.

32. Bei einem Manne mit chronischen Diarrhöen enthielt die 24 stündige Urinmenge 1800 ccm 0,0746 g Tribromphenol = 0.0211 g Phenol.

33. Elise H., 22 Jahre, Perityphlitis, seit zwei Tagen verstopft; Kothtumor im rechten Hypochondrium fühlbar, geringe Empfindlichkeit des Leibes, kein Erbrechen, geringes Fieber (38.0 bis 38.6°):

Urinmenge 2900 ccm, spec. Gew. 1009, gab Tribromphenol 0.0125 g = 0.003 g Phenol.

Indicanreaction schwach.

Auf verabreichte Abführmittel erfolgte am Tage darauf reichlich Stuhlgang, womit auch die Schmerzhaftigkeit im Leibe und der Kothtumor schwand. Im Urin nur noch Spuren von Phenol.

34. K., 56 Jahre. Icterus catarrhalis, Stuhlgang täglich, völlig ungefärbt, stark ikterische Harnfärbung:

2000 ccm Urin, spec. Gew. 1017, gab 2.77 g $SO_4H_2$ der Salze, gepaarte 0.011 g, Tribromphenol 0.1216 g = Phenol 0.0316 g.

1200 ccm Urin, spec. Gew. 1019, gab Tribromphenol 0.0545 g = Phenol 0.0151 g.

Bei einigen Affectionen, wo das Peritoneum in hohem Grade betheiligt, war die Phenolausscheidung, gleich wie die des Indicans, um ein Beträchtliches vermehrt.

35. Emma Moser, 18 Jahre, wurde den 24. Mai auf die medicin. Abtheilung wegen Peritonitis acuta, welche von einer nicht infectiösen Parametritis sich entwickelt hatte, aufgenommen. Sechs Tage bestand schon Stuhlverstopfung, hier und da Erbrechen.

40. J. S., 21 Jahre, Tetanus, übelriechende eiternde Wunde am Daumen, schwache Indicanreaction. Die 24stündige Urinmenge nach seiner Aufnahme enthielt 0.7732 g Tribromphenol = 0.2195 g Phenol.

41. J. L., 9 Jahre, Tetanus, seit 3 Tagen vor seiner Aufnahme (den 10. Juli) in Folge Einführung eines Holzsplitters in die linke Fusssohle. Keine offene Wunde, Retentio urinae seit 24 Stunden.

Der per Catheter entzogene Urin (360 ccm, spec. Gew. 1032) enthielt 0.5842 g Tribromphenol = 0.1659 g Phenol.

Den 11. Juli:

Urin 300 ccm, spec. Gew. 1039, Tribromphenol 0.0425 g = Phenol 0.012 g.

Den 13. Juli:

Urin 240 ccm, spec. Gew. 1030, Tribromphenol 0.0312 g = Phenol 0.008 g.

Dabei bestand fortwährend hartnäckige Obstipation. Indicanreaction stets sehr deutlich. Weitere Bestimmungen verboten sich durch chirurgische Eingriffe, die Carbolanwendung erforderlich machten.

42. H., 19 Jahre, Tetanus rheumaticus seit 14 Tagen vor seiner Aufnahme den 1. Juli), nirgends eine Wunde.

Den 2. Juli:

Urin 1000 ccm, spec. Gew. 1012, gab Tribromphenol 0.0506 g = Phenol 0.0142 g.

Den 3. Juli:

Urin 1000 ccm, spec. Gew. 1010, gab Tribromphenol 0.0442 g = Phenol 0.0125 g.

Eigenthümlicher noch gestalten sich die Phenolausscheidungen bei Infectionskrankheiten und septischen Zuständen.

43. Margaretha H., $2^1/_2$ Jahre, Diphtheritis, Temp. 38.0 bis 39.0°. Albuminurie. Der Urin von 24 Stunden gab 0.0535 g Tribromphenol = 0.0151 g Phenol.

44. Johann Stalder, 38 Jahre, tritt den 11. Juni im hiesigen Spital mit furchtbar stinkendem, eitrigem Empyem mit Pleurafistel ein. Temp. 40.0°, nachdem die Pleurahöhle dreimal täglich mit Jodjodkalilösung ausgespült und mit der gleichen Lösung auch verbunden worden, wird vom 2. Tage nach seinem Eintritt, wo der Eiter noch immer roch, der Phenolgehalt der 24stündigen Urinmenge bestimmt.

Urinmenge vom 13. Juni:

900 ccm, spec. Gew. 1014, gab Tribromphenol 1.0960 g = 0.3112 g Phenol.

Urinmenge vom 14. Juni:

800 ccm, spec. Gew. 1012, gab Tribromphenol 2.2219 g = 0.6309 g Phenol.

Den 12. Juni: Kein Fieber mehr, abgesonderter Eiter geruchlos.

800 ccm Urin, spec. Gew. 1012, enthielt 0.0788 g Tribromphenol = 0.0226 g Phenol.

Inzwischen stellten sich wieder abendliche Fiebererregungen ein bis 38.2°; Eiter riecht wieder übel.

Den 21. Juni waren in:

1500 ccm Urin, spec. Gew. 1018, 0.3868 g Tribromphenol = 0.1098 g Phenol.

Den 25. Juni wird Patient auf Wunsch entlassen. Kein Fieber, noch Geruch des Eiters, nur Spuren von Phenol im Urin. Die Indicanreaction war stets von Anfang an nur wenig deutlich gewesen.

Vom 9. bis 11. Juli hatte ich wieder Gelegenheit, den Patienten zu sehen. Der abgesonderte Eiter war völlig geruchlos. Der Urin vom 9. und 10. Juli zeigte nur unwägbare Mengen von Phenol.

Beifügen möchte ich noch, dass die Stuhlentleerungen des Patienten jeden Tag regelmässig erfolgten.

45. Bei einer an Puerperalfieber in der 3. Woche kranken und ziemlich heruntergekommenen Frau mit Erysipelas faciei, eitriger Schultergelenkentzündung und Exsudat in der Bauchhöhle, welche allabendlich Fieber bis zu 39° C. hatte, fand ich im Urin von 2 Tagen:

3500 ccm, spec. Gew. 1012, 0.1874 g Tribromphenol = 0.053 g Phenol —

2000 ccm (24stündige Urinmenge vom folgenden Tage) 0.592 g Tribromphenol = 0.1871 g Phenol.

In einer anderen 24stündigen Urinmenge:

1000 ccm gab 0.0834 g Tribromphenol = 0.0236 g Phenol.

46. Bei einem Individuum mit phlegmonösem Abscess am Bein, der an mehreren Stellen perforirt, bereits seit 5 Wochen putriden, äusserst stinkenden Eiter absonderte, prüfte ich, ehe operativ eingegriffen wurde, den Urin auf seinen Phenolgehalt, der in der 24stündigen Menge

700 ccm, spec. Gew. 1018, 0.2105 g Tribromphenol = 0.0596 g Phenol

betrug. Aus dem dann entleerten, stinkenden Eiter erhielt ich bei der Destillation mit $SO_4H_2$ in reichlichen Mengen Tribromphenol. Dies veranlasste mich, durch Destillation anderer Transsudate und Exsudate mit Essigsäure oder Schwefelsäure auf Indol oder Phenol zu fahnden. Seröse Flüssigkeiten aus der Bauchhöhle oder den Pleurahöhlen von an amyloider Degeneration gestorbenen Individuen oder von Herz- oder Lungenkranken, im Leben durch Punktion gewonnen, waren völlig frei von Indol oder Phenol. Ebenso wenig gelang es mir, dergleichen bei an eitriger oder jauchiger Peritonitis gestorbenen Individuen nachzuweisen.

Auch in der in Folge von Lungengangrän äusserst intensiv stinkenden pleuritischen Flüssigkeit des oben erwähnten Kindes mit Diphtheritis fehlte Phenol und Indol. Der furchtbare Gestank dieser Flüssigkeiten scheint durch das gelbe Oel bedingt zu sein, welches ich schon früher[1]) aus ähnlichen Flüssigkeiten dargestellt hatte. Das Vorkommen von Phenol in dem oben citirten Eiter ist vielleicht bedingt durch das lange Bestehen des phlegmonösen Abscesses und die Zersetzung seines Inhaltes durch die frei zutretende atmosphärische Luft.

---

[1]) Ber. **10**, 1027 u. ff. — Dieser Band S. 239.

Um mich zu vergewissern, ob die Darmfäulniss, bei der ja, wie ich schon früher nachgewiesen, Phenol, wenn auch in geringeren Mengen, stets sich bildet, nicht etwa bei längerer Dauer eine stärkere Phenolbildung resp. Ausscheidung bewerkstellige, obstipirte ich mehrfach Personen mittelst Opiate.

47. Ein 40 Jahre alter Mann hatte vor dem Versuche in (24stündige Urinmenge):

1200 ccm, spec. Gew. 1020, Tribromphenol 0.0228 g = Phenol 0.0064 g.
2400 ccm, spec. Gew. 1015, Tribromphenol 0.0317 g = Phenol 0.0081 g.

Nach 1 Tage Verstopfung:

1800 ccm, spec. Gew. 1018, Tribromphenol 0.430 g = Phenol 0.0122 g

Nach 3 Tagen Verstopfung:

2500 ccm, spec. Gew. 1020, Tribromphenol 0.0144 g = Phenol 0.0040 g.

Nach 4 Tagen Verstopfung:

2300 ccm, spec. Gew. 1017, Tribromphenol 0.0485 g = Phenol 0.0137 g.

Nach 5 Tagen Verstopfung:

2100 ccm, spec. Gew. 1017, Tribromphenol 0.1327 g = Phenol 0.0376 g.

48. Bei einer 48 Jahre alten Frau betrug vor der Verstopfung in:

1000 ccm Urin, spec. Gew. 1018, das Tribromphenol 0.0438 g = Phenol 0.0129 g.

Nach 3 Tagen Verstopfung:

1800 ccm Urin, spec. Gew. 1012, das Tribromphenol 0.0135 g = Phenol 0.0038 g.

Nach 5 Tagen Verstopfung:

1500 ccm, spec. Gew. 1016, nur Spuren.

49. Bei einem 45 Jahre alten Manne wurden zwei Verstopfungsversuche vorgenommen. Vorher waren, wie ich mich wiederholt überzeugte, im Urin stets nur Spuren von Phenol vorhanden.

Einmal enthielt der Urin nach 2 Tagen Verstopfung:

Urinmenge 1800 ccm, spec. Gew. 1018, Tribromphenol 0.0432 g = Phenol 0.0122 g.

Bei dem anderen Versuche gab der Urin nach 2 Tagen Verstopfung:

Urinmenge 1900 ccm., spec. Gew. 1018, Tribromphenol 0.0141 g = Phenol 0.0049 g.

Nach 3 Tagen Verstopfung:

Urinmenge 2000 ccm, spec. Gew. 1021, Tribromphenol 0.0180 g = Phenol 0.0051 g.

Indicanreaction war stets schwach.

50. Bei einer Frau, die wegen eines Gehirnleidens ins Spital gebracht worden und an hartnäckiger Obstipation litt, waren nach 6 Tagen Verstopfung in der 24stündigen Urinmenge 0.1575 Tribromphenol = 0.0447 Phenol; nach 7 Tagen Obstipation 0.1212 Tribromphenol = 0.0344 Phenol.

Ich bin mir wohl bewusst, dass die angeführten Zahlenbelege noch zu wenig umfangreich sind, als dass es gestattet sein sollte, aus ihnen weitgehende Schlüsse zu ziehen, doch sind die Abweichungen von der normalen Phenolmenge bei gewissen

Erster Versuch: Ein Mann, 118 Pfund schwer, auch nach dem Versuch täglich Stuhlgang. Indicanreaction gab stets nur violette Färbung.

| | Urinmenge | Spec. Gewicht | $SO_4H_2$ der Salze | $SO_4H_2$ als gepaarte Säure |
|---|---|---|---|---|
| 1. Tag | 2060 | 1014 | 2.614 g | 0.067 g |
| 2. „ | 1980 | 1016 | 2.515 „ | 0.0982 „ |
| An diesem Tage nimmt Patient 10 g Tyrosin auf einmal Mittags 12 Uhr. | | | | |
| 3. Tag | 1770 | 1016 | 2.127 g | 0.248 g |
| 4. „ | 1950 | 1017 | 1.816 „ | 0.2317 „ |
| 5. „ | 1530 | 1019 | 2.115 „ | 0.113 „ |
| 6. „ | 1830 | 1018 | 2.115 „ | 0.106 „ |

Zweiter Versuch: Ein Mann, 112 Pfund schwer; nach Einnahme des Tyrosins bestand 3 Tage hindurch Stuhlverstopfung.

| | Urin-menge | Spec. Gew. | $SO_4H_2$ der Salze | Gepaarte $SO_4H_2$ | Tribromphenol | Phenol | Die zur Bindung des ausgeschiedenen Phenols erforderliche $SO_4H_2$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. Tag | 1300 | 1018 | 2.75 | Spur | unwägbar | — | — |
| 2. „ | 1900 | 1019 | 3.35 | Spur | „ | — | — |
| Mittags 12 Uhr geniesst das betreffende Individuum 20 g Tyrosin mit dem Essen. | | | | | | | |
| 3. Tag | 1800 | 1014 | 1.75 | 0.278 | 0.4309 | 0.152 | 0.1583 |
| 4. „ | 1700 | 1014 | 3.06 | 0.602 | 0.2794 | 0.079 | 0.082 |
| 5. „ | 1500 | 1016 | 1.65 | 0.369 | verloren | — | — |
| 6. „ | 1100 | 1019 | 1.85 | 0.200 | 0.247 | 0.070 | 0.072 |
| 7. „ | 1400 | 1016 | 2.35 | 0.197 | unwägbar | — | — |

Dritter Versuch: Ein Mann, 121 Pfund schwer, 2 Tage Stuhlverstopfung nach Verabreichung des Tyrosins.

| | Urin-menge | Spec. Gew. | $SO_4H_2$ der Salze | Gepaarte $SO_4H_2$ | Tribromphenol | Phenol | Die zur Bindung des ausgeschiedenen Phenols erforderliche $SO_4H_2$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. Tag | 1900 | 1017 | 2.37 | 0.158 | 0.0562 | 0.0159 | 0.016 |
| 2. „ | 1400 | 1017 | 1.15 | 0.074 | 0.0994 | 0.0225 | 0.0234 |
| 3. „ | 1950 | 1017 | 2.94 | 0.163 | 0.0809 | 0.0223 | 0.023 |
| 4. „ | 2250 | 1015 | 3.15 | 0.113 | 0.0643 | 0.0182 | 0.0189 |
| Einnahme von 20 g Tyrosin in 2 Portionen. | | | | | | | |
| 5. Tag | 2250 | 1015 | 2.95 | 0.279 | 0.1736 | 0.0493 | 0.0503 |
| 6. „ | 2050 | 1015 | 2.72 | 0.446 | 0.5540 | 0.1576 | 0.1642 |
| 7. „ | 2000 | 1017 | 2.65 | 0.210 | 0.2835 | 0.0851 | 0.0887 |
| 8. „ | 2000 | 1015 | 2.64 | 0.167 | 0.2195 | 0.0609 | 0.0634 |
| 9. „ | 1700 | 1017 | 2.10 | 0.142 | 0.1228 | 0.0348 | 0.0462 |

Ueberblickt man diese Zahlenreihen, so begegnet man stets nach der Einnahme des Tyrosins einer vermehrten Ausscheidung des Phenols, sowie der gepaarten Schwefelsäuren. Die geringfügige Obstipation, welche in den letzten beiden Versuchen eintrat, kann nicht eine so beträchtliche Phenolausscheidung im Gefolge haben. Erst nach sechstägiger Obstipation wurde circa das Doppelte der gewöhnlichen Phenolmenge ausgeschieden, während bei der Tyrosinverabreichung schon am Tage der Einnahme die gleiche Menge erreicht wurde, die am folgenden Tage noch um ein Bedeutendes überschritten wurde, um allmählich abzunehmen. Vergleicht man die Mengen der ausgeschiedenen gepaarten Schwefelsäuren mit der zur Bindung des Phenols erforderlichen Schwefelsäure, so bleibt immer noch eine Menge ungebundener Schwefelsäure zurück, die an andere Körper gebunden sein muss. Die Indicanreaction war auch an den Tyrosintagen sehr schwach, so dass an eine Bildung des Indols aus Tyrosin wohl nicht zu denken ist. Beim Waschen der gepaarten Schwefelsäuren mit heissem Alkohol färbte sich derselbe nach der Tyrosineinnahme stets intensiv blau, eine Färbung, die vorher nie vorhanden war. Vielleicht ist dieser Farbstoff identisch mit dem, welchen Baumann[1]) nach stärkerem Phenolgebrauch unter die Hände bekam. Diesen Farbstoff näher zu untersuchen, verhinderte die geringe Ausbeute. Möglicherweise bindet dieser Farbstoff den Ueberschuss der gepaarten Schwefelsäuren. Weder in den Fäces noch im Harn war je Tyrosin nachzuweisen. Auch gelang es nicht, im Urin an den Tyrosintagen eine im Harn etwa sonst nicht vorkommende Substanz zu isoliren. Es scheint demnach der grössere Theil des Tyrosins im Körper verbrannt zu werden.

Nencki's Laboratorium in Bern.

---

# Erwiderung in Betreff der pathologischen Phenolausscheidung

von

**M. Nencki** in Bern.

Cent. Med. Wiss. Nr. 3[illegible]

Der in Nr. 31 des Cent. Med. Wiss. gegen Herrn Dr. Brieger gerichtete Angriff des Herrn Prof. Salkowski nöthigt mich zu folgender Erklärung:

Herr Dr. Brieger hat in dem hiesigen Laboratorium vor einem Jahre Untersuchungen über die Phenolausscheidung bei Krankheiten und Tyrosingebrauch unternommen. Zur Zeit, wo er die betreffende kurze Mittheilung für das Centralblatt verfasste, waren ihm nur die beiden Publicationen von Salkowski in den Berliner chem. Berichten (10, 842) und im Centralblatt (1876, S. 818) bekannt, die hier in Betracht

[1]) Ueber gepaarte Schwefelsäuren im Organismus. Pflüger's Archiv für Physiologie 13.

...ende letzte Publication wird auch von Brieger erwähnt. Die jüngste Publication Prof. Salkowski in Virchow's Archiv (73, Heft 3) ist Herrn Brieger erst ...h Absendung seiner Mittheilung an die Redaction des Cent zugekommen.

Dass Phenol im Harne constant vorkommt, ist eine seit den Arbeiten Städeler's bekannte Sache. Das Vorkommen dieses Körpers im Harne hat aber erst dann an Interesse gewonnen, nachdem Baumann Phenol als Product der Eiweissfäulniss und Brieger als normalen Bestandtheil des Darminhaltes erkannt haben. Nachdem durch verschiedene Untersuchungen, welche in meinem Laboratorium seit mehr als vier Jahren angestellt werden, die Zersetzung der Nahrung durch Fäulnissorganismen im Darme als eine unbestreitbare Thatsache festgesetzt wurde, war es die nächstliegende Consequenz, den Grad und die Intensität der Fäulniss im Darmrohr im normalen und pathologischen Zustande zu erforschen. Zunächst musste aber noch festgestellt werden, welche von den charakteristischen Fäulnissproducten und in welchen Mengen normale Bestandtheile des Darminhalts sind. Auf meinen Wunsch hat Herr Dr. Brieger diese mühsame und schwierige Untersuchung mit Erfolg durchgeführt. Die für die Fäulniss der Eiweissstoffe charakteristischen flüchtigen Fettsäuren, Phenol, Indol und Skatol, wurden theils aus dem Darminhalt, theils aus den Excrementen dargestellt und analysirt. Die Auffindung des dem Indol homologen Skatols zeigte, dass die Indicanausscheidung allein nicht als Maass für die Intensität der Fäulniss benutzt werden kann. Was lag nun näher, als sich an das Phenol zu halten, um aus der im Harne ausgeschiedenen Menge die Fäulniss zu bemessen?

Ist es ferner nicht selbstverständlich, dass derjenige, der das Phenol im Darmrohr aufgefunden hat, dessen Menge im Harne zu bestimmen sucht? Brieger hatte Recht, „seine Phenolbestimmungen im Harn als Consequenz der von ihm gefundenen Thatsache, dass der Darminhalt eine geringe Menge Phenol enthält, hinzustellen".

Prof. Salkowski beabsichtigte allem Anscheine nach die Indicanausscheidung bei Krankheiten zu studiren und ist dabei auf die vermehrte Phenolausscheidung aufmerksam geworden. Hätte er sich genauer mit dieser Frage befasst, so würde er schwerlich aus seinen sechs Bestimmungen in drei beobachteten Fällen den Schluss gezogen haben, dass der hohe Phenolgehalt mit dem hohen Indicangehalt zusammenfällt und auf ein Minimum verschwindet, wenn das Indican verschwindet. Brieger, der im Urine mehr als 50 Kranker gegen 200 Phenolbestimmungen ausführte, fand, dass die Phenolausscheidung mit der Indicanausscheidung nicht parallel geht, was auch mit den künstlichen Fäulnissversuchen übereinstimmt. Bei der pankreatischen Fäulniss an der Luft tritt das Phenol durchschnittlich erst am sechsten Tage auf und nimmt dessen Menge mit der Dauer der Fäulniss immer zu, während Indol nicht mehr gebildet wird und das in den ersten Tagen entstandene Indol sich allmählich verflüchtigt.

Brieger war der erste, der sich in bewusster Absicht und systematisch mit der Frage der Phenolausscheidung bei Krankheiten beschäftigte. Dies Arbeitsfeld freizugeben oder nicht, hat Salkowski kein Recht, da es nicht sein Eigenthum ist. Mit voller Berechtigung sagt Brieger, dass man „von quantitativen Bestimmungen des Phenolgehaltes im Urin voraussichtlich eine viel bessere Anschauung von dem Grade der Darmfäulniss erhalten dürfte". In seiner Mittheilung findet sich aber kein Wort

darüber, dass die Menge des ausgeschiedenen Phenols ohne Weiteres als directes Maass für die Menge des durch Fäulniss zersetzten Eiweisses zu betrachten ist, was ihm von Salkowski untergeschoben wird. Es müsste erst gezeigt werden: 1. wie viel Phenol aus Eiweiss bei der Fäulniss entsteht, und 2. festgestellt werden, ob alles im Darm entstandene Phenol mit dem Harn ausgeschieden wird.

Auf meinen Wunsch hat nun Herr Dr. Odermatt Phenol- und Indolmengen, die aus verschiedenen Eiweisssubstanzen und bei verschiedener Dauer der Fäulniss bei 40° C. und Luftzutritt entstehen, bestimmt und gefunden, dass die Menge des Indols mit Beginn der Fäulniss wächst, dann aber bei längerer Dauer der Fäulniss sichtlich abnimmt. Die Menge des gebildeten Phenols, das immer erst viel später auftritt, nimmt dagegen bis zur völligen Zersetzung des Eiweisses mit der Zeit immer zu. Es wurden beispielsweise folgende Zahlen erhalten auf 100 Thle. trockener und aschefreier Proteïnsubstanz berechnet:

| | Dauer der Fäulniss | Indol in Proc. | Phenol in Proc. |
|---|---|---|---|
| Aus Muskelfleisch | $2^1/_2$ Tage | 0.1185 | unwägbar |
| „ „ | 8 „ | 0.0187 | 0.0284 |
| „ „ | 17 „ | 0.0099 | 0.1120 |
| Aus Serumeiweiss | 5 „ | 0.058 | unwägbar |
| „ „ | 7 „ | 0.13 | 0.0064 |
| „ „ | 10 „ | 0.153 | 0.125 |
| „ „ | 19 „ | 0,025 | 0.347 |

Andererseits hat mein Assistent, Herr Dr. Schaffer, mehrere Fütterungsversuche mit Phenol am Hunde angestellt und, wie es auch Prof. Salkowski angiebt, nur etwas mehr als die Hälfte des gefütterten Phenols aus dem Harne wieder erhalten. Da auch der nach Phenolfütterung gelassene Koth kein Phenol enthielt, so ist er noch damit beschäftigt, zu erforschen, was aus der kleineren Hälfte im Organismus geworden ist. Die Untersuchungen der beiden Herren werden in dem nächsten Hefte des Journals für praktische Chemie abgedruckt und der Vorwurf des Herrn Prof. Salkowski, „es sei unser Gesichtspunkt ein viel zu enger", trifft nicht zu.

Wenn endlich Prof. Salkowski es „für wahrscheinlich hält, dass das Indol und vielleicht auch Phenol nicht ausschliesslich im Darmcanal, sondern auch in den Geweben entstehen", so kann ich auf Grund meiner Beobachtungen sagen, dass diese Annahme zum mindesten sehr unwahrscheinlich ist. Bei der Destillation wässeriger Auszüge von frischen Muskeln oder Drüsen erhielt ich nie Indol oder Phenol.

Auch Hoppe-Seyler giebt an, nie im Blute oder thierischen Säften Phenol gefunden zu haben. Das Vorkommen dieser Substanzen in pathologischen Flüssigkeiten ist übrigens auch nicht häufig. Herr Dr. Brieger hat bei der Destillation von mehr als 30 verschiedenen geruchlosen und stinkenden Exsudaten nur in zwei Fällen Tribomphenol erhalten und nur in einem Falle gab das Destillat eines Exsudats von einer an Puerperalfieber verstorbenen Frau mit rauchender Salpetersäure eine rothe

Färbung, jedoch ohne Abscheidung des krystallinischen rothen Niederschlages, so dass es nicht sicher ist, ob wirklich Indol vorlag. Der stinkende Geruch solcher Flüssigkeiten wird hauptsächlich durch das namentlich aus Mucin, aber auch aus bei gewöhnlicher Temperatur faulendem Eiweiss sich bildende gelbe Oel verursacht, dessen Charakterisirung mir aber bis jetzt nicht gelang. Daraus indessen, dass in solchen Exsudatflüssigkeiten sich manchmal Phenol findet, schliessen zu wollen, dass Indol und Phenol in den gesunden Geweben, also Muskeln oder drüsigen Organen, entstehen, ist nicht zulässig. In Höhlungen jedoch, Flüssigkeiten oder festen Geweben, wo die Zellenthätigkeit unwirksam oder geschwächt ist, wie im Darmcanal, ferner in abgestorbenen oder krankhaft stark afficirten Theilen können die Spaltpilze, weil eine Concurrenz nicht besteht, entsprechend den gegebenen Ernährungsverhältnissen sich vermehren und die ihnen eigenthümlichen Producte bilden (s. Nägeli, Die Spaltpilze, München, 1877). Dass Salkowski auch bei hungernden Hunden minimale Mengen Indigo im Harn gefunden hat, erkläre ich mir dadurch, dass die eiweisshaltigen Secrete der Verdauungsdrüsen auch im Hungerzustande in den Darm ergossen werden und dort der Fäulniss unterliegen, die wahrscheinlich um so intensiver ist, als die Lebensthätigkeit hungernder Thiere herabgesetzt wird.

---

# Vortheilhafte Darstellung des Skatols

von

## M. Nencki.

Cent. Med. Wiss. Nr. 47.

Da das Interesse an dieser Substanz, seitdem sie Brieger als das hauptsächlichste aromatische Product der Eiweissfäulniss im menschlichen Darmrohr erkannte, auch in medicinischen Kreisen erweckt worden ist, so will ich hier schon jetzt eine Darstellungsmethode des Skatols beschreiben, welche es ermöglicht, diese Substanz in hinreichender Menge darzustellen, um sowohl ihre chemische Zusammensetzung, als auch ihr Verhalten im Organismus zu erforschen. Gelegentlich einer Arbeit, die ich gemeinschaftlich mit Herrn Dr. Kauffmann hauptsächlich in der Absicht ausgeführt habe, um nur eine Species der verschiedenen Spaltpilze auf Eiweiss einwirken zu lassen, habe ich die Untersuchung der Zersetzung des Eiweisses durch die pankreatische Fäulniss bei niedriger Temperatur unternommen.

Es wurden 23.30 g frisches Pankreas und 500 g Muskelfleisch von Fett befreit und klein zerhackt mit 8 Liter Brunnenwasser übergossen und vom 21. Mai bis 15. October in einem lose zugedeckten Topfe der Fäulniss bei Zimmertemperatur überlassen. In diesem Zeitraume schwankte dieselbe zwischen 3.5° im Minimum und 27.5° (Juli) im Maximum. Ich beobachtete nun, dass nach einer so langen Fäulniss bei gewöhnlicher Temperatur die Flüssigkeit kein Indol, sondern nur Skatol enthielt.

Ich muss hier auf genaue Beschreibung der Methoden, nach welchen die gefaulte Flüssigkeit untersucht worden, sowie der dabei auftretenden Fäulniss-organismen verzichten und verweise auf die demnächst im „Journal für praktische Chemie“ erscheinende ausführliche Abhandlung hierüber.

Wird die faulende Lösung nach Verlauf der oben angegebenen Zeit, sei es für sich, sei es nach Zusatz von Essigsäure destillirt, so geht mit den Wasserdämpfen das Skatol in die Vorlage über, welches zweckmässig nach dem Ansäuern mit Salz-säure mittelst Pikrinsäure ausgefällt wird. Durch Destillation der abfiltrirten, in schönen rothen Nadeln krystallisirenden Pikrinsäureverbindung des Skatols mit wässerigem Ammoniak und Umkrystallisiren aus heissem Wasser der mit Wasser-dämpfen übergehenden Substanz, wird das Skatol völlig rein erhalten. Aus der oben bezeichneten Menge der Eiweisssubstanzen erhielt ich 0.31 g analytisch reines Skatol. Die Elementaranalysen desselben ergaben: 82.31 Proc. C und 7.22 Proc. H, ferner 82.50 Proc. C und 7.18 Proc. H. Diese Zahlen stimmen am besten auf die empirische Formel $C_9H_9N$. Doch behalte ich mir vor, sobald ich nach der obigen Methode grössere Mengen Skatols erhalten werde, durch Analysen der Pikrinsäure-verbindung, sowie des freien Skatols, dessen Formel endgültig festzustellen.

Das so erhaltene Skatol schmolz bei 95° C. und zeigte sich in allen sonstigen Eigenschaften als mit dem von Brieger aus menschlichen Fäces erhaltenen identisch. Von Indol war in den Destillaten keine Spur nachweisbar. Nach so langer Dauer der Fäulniss bei gewöhnlicher Temperatur enthielt die Flüssigkeit hauptsächlich Ammoniak, an Kohlensäure und flüchtige Fettsäuren gebunden. Auf die Gesammt-menge der Flüssigkeit = 8500 ccm berechnet, erhielt ich 48.47 g Ammoniak. Ebenfalls auf die Gesammtmenge der Flüssigkeit berechnet, wurden 0.285 g Phenol erhalten; ausserdem eine syrupöse, in Aether lösliche, in Wasser unlösliche und darin untersinkende Säure, welche mit Zinkoxydhydrat gekocht ein stickstofffreies in Wasser lösliches und in undeutlichen Blättchen krystallisirendes Zinksalz lieferte. Andere krystalloide Producte, ausser noch unorganischen Salzen, wurden nicht erhalten. Kein Tyrosin und kein Leucin mehr. Die Zersetzung des Eiweisses ist hier soweit gegangen, wie ich es noch niemals beobachtete. Der charakteristische Skatolgeruch wurde erst im vierten Monat der Fäulniss bemerkbar.

Als Ochsenpankreas und Fleisch in gleichen Mengen und mit eben so viel Wasser nach dreimonatlicher Fäulniss bei gewöhnlicher Temperatur (April, Mai, Juni) der Destillation unterworfen wurden, erhielt ich im Destillate hauptsächlich die gelbe ölige Substanz, deren ich schon früher erwähnte (s. Centrbl. 1878, Nr. 34. — Dieser Band S. 430), daneben minimale Mengen Indol (0.0098 g) und unwägbare Spuren von Phenol, kein Skatol. Aus meinen früheren Untersuchungen ist es bekannt, dass, wenn Eiweiss mit Pankreas bei Bruttemperatur vier bis fünf Tage fault, nur Indol erhalten wird. Es entsteht dabei keine Spur Skatol und es ist gewiss von Interesse, dass diejenige Substanz, welche aus Eiweiss durch schmelzendes Kalihydrat bei einer Temperatur von 260 bis 290° C., ferner im menschlichen Dickdarm bei Bruttemperatur gebildet wird, bei der Fäulniss ausserhalb des menschlichen Darm-rohrs erst nach fünf Monaten und bei niedriger Temperatur entsteht. Durch diese Beobachtung wird zum ersten Male sicher constatirt, dass die durch den Lebens-

rocess organisirter Fermente entstehenden Producte, je nach der Temperatur, ver-
:hieden sein können.

Anlässlich des neuerdings gegen mich gerichteten Angriffs des Herrn Prof. ·alkowski sei es mir zum Schluss gestattet, zu erklären, dass ich Alles, was ich ı meiner Erwiderung auf seinen Angriff gegen Dr. Brieger in Nr. 34 des Cent. led. Wiss. gesagt habe, aufrecht erhalte. Dass Salkowski vor Brieger vermehrte 'henolausscheidung bei Peritonitis beobachtete, hat Brieger in seiner ersten vor-äufigen Mittheilung bereits erwähnt und damit ist den Prioritätsansprüchen des Herrn Salkowski Genüge geschehen. Welchen Antheil an der Frage der pathologischen Phenolausscheidung Herr Salkowski und welchen Herr Brieger daran hat, darüber können sich diejenigen Fachgenossen, welche dazu Lust haben, da die beiderseitigen Publicationen vorliegen, selbst ein Urtheil bilden. Auf die letzten Auseinandersetzungen des Herrn Salkowski einzugehen, halte ich für nutzlos und überflüssig.

Bern, den 7. November 1878.

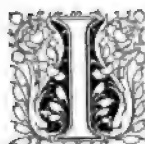
# 1879

## Ueber die Lebensfähigkeit der Spaltpilze bei fehlendem Sauerstoff

von

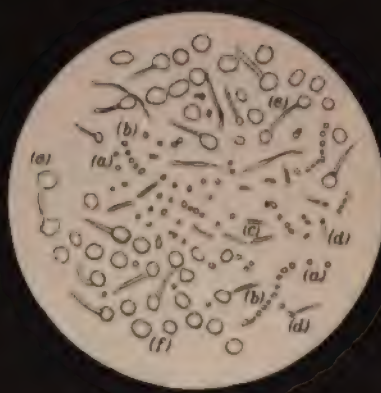
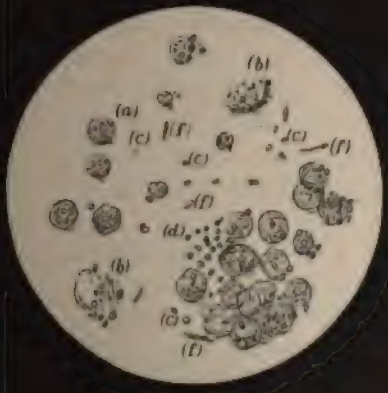
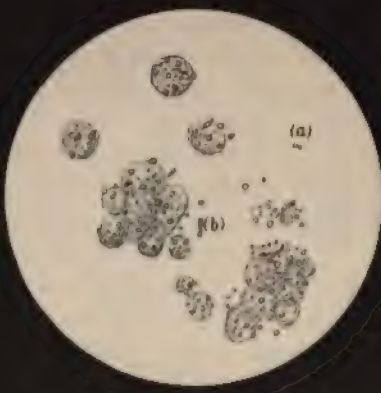
**M. Nencki.**

(Hierzu Tafel IV.)

Journ. prakt. Chemie 19, 337.

Im 16. Bande d. Journ. f. prakt. Chem. S. 266 veröffentlichte J. W. Gunning eine Reihe interessanter Versuche, deren Ergebniss er dahin resumirt, dass die Fäulniss in zugeschmolzenen Glasapparaten bei Sauerstoffausschluss entweder gar nicht eintritt, oder, wenn eingetreten, nach einiger Zeit gänzlich aufhört. Hieran knüpft er die Bemerkung, dass, wenn der Luftausschluss durch hermetische Schliessung der Apparate bewirkt wird, dann meine Behauptung — dass lebende Organismen bei Luftausschluss Zersetzung grosser Mengen organischer Substanzen nicht nur hervorrufen, sondern auch vollenden können — für die Fäulnissprocesse nicht zutrifft. Allerdings sind aber Sauerstoffausschluss und hermetische Schliessung der Apparate zwei verschiedene Dinge, wenn auch Gunning sie als gleichbedeutend zu betrachten geneigt ist. Die Versuche von Jeanneret [1], auf die ich die obige Behauptung stützte, sind in meinem Laboratorium ausgeführt worden. Ich habe selbst die von Jeanneret erwählte Versuchsanordnung erprobt und hatte keinen Grund, an der Zuverlässigkeit derselben zu zweifeln. Bei Fäulnissversuchen, in welchen die Gasentwickelung über vier Wochen dauerte, stieg das Quecksilber nach Aufhören desselben in dem Ableitungsrohr zurück, als Zeichen, dass der Gummistöpsel luftdicht schloss. Von Eindringen einer irgend nennbaren Menge Sauerstoff in den Kolben konnte nicht die Rede sein. Wenn daher in den Versuchen Gunning's die Fäulniss entweder gar nicht eintrat, oder, wenn eingetreten, bald aufhörte, so wurde es mir allerdings sehr wahrscheinlich, dass die Art des Ver-

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **15**, 353. — Dieser Band S. 246.

Tafel IV.

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn in Braunschweig

schlusses in seinen Versuchen die Ursache davon war. Gunning experimentirte in zugeschmolzenen Glasgefässen, aus denen meistentheils die Luft vorher durch Auspumpen entfernt wurde. Die Bedenken, die sich gegen eine derartige Versuchsanordnung erheben lassen — dass nämlich ein solcher Verschluss das Entweichen irgend welchen flüchtigen Stoffes, dessen Anhäufung über ein gewisses Maass die Bacterien tödten oder unwirksam machen könnte, verhindert — werden von Gunning erwogen, als gering bezeichnet, aber nicht ganz geleugnet. Ein anderes Bedenken betrifft die Infectionsorganismen. Ich habe mehrfach beobachtet, dass sehr bewegliche Bacillen, in fäulnissfähige Lösung bei Luftausschluss gebracht, sehr bald ihre Beweglichkeit verloren und zu Boden fielen, während die Nährlösung klar und ohne jedes Zeichen putrider Zersetzung blieb. Es war möglich, dass die von Gunning zur Inficirung verwendeten Tropfen von faulendem Eiweiss wohl lebensfähige Luftspaltpilze, aber keine frischen, bei Luftausschluss lebensfähigen Keime enthielten. Gelegentlich der Versuche Jeanneret's habe ich gesehen, dass ausnahmslos bei Luftausschluss Fäulniss sich einstellte, wenn zur Inficirung ein Stückchen frisches Ochsenpankreas oder einige Tropfen des aus der Drüse ausgepressten Saftes verwendet wurden. Ich habe daher zunächst die Versuche Gunning's auf folgende Weise wiederholt:

Ein etwa 1 cm weites Glasrohr wurde an einem Ende zu einer annähernd 50 ccm fassenden Kugel ausgeblasen, sodann die Kugel bis etwas über die Hälfte mit einer fäulnissfähigen Flüssigkeit gefüllt. Als solche benutzte ich entweder pankreatischen Saft, gewonnen durch Pressen durch ein Tuch von frischer, klein zerhackter Ochsendrüse, die mit Wasser zu einem Brei angerührt worden, oder auch 2 proc. Leim- oder Eiweisslösungen, denen einige Tropfen des obigen pankreatischen Saftes zugesetzt wurden. Wie aus meinen früheren Publicationen bekannt, enthält die Pankreasdrüse lebender Thiere in ungeheurer Anzahl die Keime der Fäulnissorganismen. Hierauf wurde der Apparat bei *b* (siehe Fig. 3) an der Gaslampe eng ausgezogen und das offene Ende (*c*) mit einem Körting'schen Aspirator verbunden. Während des Saugens tauchte die Kugel (*a*) in ein auf 40° erwärmtes Wasserbad, und die in ihr enthaltene Flüssigkeit befand sich beständig in heftigem Sieden. Nach 15 bis 20 Minuten lang dauerndem Kochen wurde während des Saugens mit einer spitzen Flamme bei (*b*) der Apparat zugeschmolzen. Ich erhielt so vollkommen luftleere Wasserhammer, die kräftig an die Wand anschlugen und in denen die Flüssigkeit durch die Handwärme zum Sieden gebracht wurde. 8 Stück so beschickter Apparate wurden einige Tage bis drei Wochen lang in 40° warmem Wasserbade gelassen. Ausnahmslos trat überall Fäulniss ein. Die Flüssigkeiten wurden stinkend, trübe und in allen war ein geringer Druck vorhanden. Ein grosser Theil des Eiweisses wurde zersetzt, und ausser Peptonen und Amidosäuren enthielt die Lösung verhältnissmässig viel flüchtige Fettsäuren als Ammoniaksalze und Indol. Constant war der Druck und auch die Menge der gebildeten Spaltpilze grösser in denjenigen Proben, in welchen nur pankreatischer Saft enthalten war. Die hier auftretenden Fäulnissorganismen sind auf Tafel IV, Fig. 1 abgebildet.

Fig. 3.

c

b

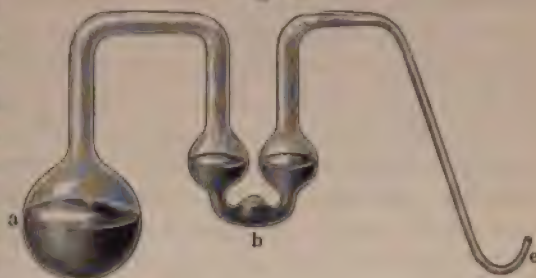
a

Das gleiche Resultat, nämlich Eintreten der Fäulniss bei vollkommenem Sauerstoffausschluss, habe ich durch folgende Versuchsanordnung constatiren können. Ein Gefäss, das in Fig. 4 im Durchschnitte abgebildet ist, ähnlich dem, das Bunsen zur Bestimmung des Absorptionscoëfficienten des Ammoniaks im Wasser angewendet hat, wurde etwa bis zur Höhe (*a*) mit frischem pankreatischem Safte gefüllt; hierauf mit dem doppelt durchbohrten Kautschukkorke verschlossen. Durch die eine Oeffnung des Korkes geht ein Glasstab, der unten bei (*c*) mit einem gut in die Verjüngung passenden, eingeschliffenen Stöpsel endet. In der zweiten Oeffnung befindet sich ein rechtwinklig gebogenes Rohr, dessen Ende (*e*) mit der Luftpumpe verbunden wird. Während des Saugens befindet sich die Kugel des Apparates im lauwarmen Wasserbade, und der Glasstab wird so weit hinausgeschoben, dass der eingeschliffene Stöpsel etwa in der Höhe von (*a*) zu stehen kommt. Sobald die Luft entfernt ist, was man an dem stossweisen Aufkochen und Anschlagen der Flüssigkeit an die Wände des Gefässes erkennt, wird durch vorsichtiges Drehen der Glasstab hinuntergedrückt, bis durch den Stöpsel die in der Kugel befindliche Flüssigkeit hermetisch abgeschlossen ist. Sodann wird während des Aspirirens mittelst einer spitzen Flamme bei (*e*) das Rohr zugeschmolzen und nach dem Erkalten das zugeschmolzene Ende in einer concentrirten, soeben bereiteten alkalischen Pyrogallollösung abgebrochen. Nachdem hinreichend, bis etwa zu der Höhe (*n*) Pyrogallollösung eingetreten ist, wurde das Rohr (*e*) von Neuem zugeschmolzen. In den in der Kugel abgeschlossenen pankreatischen Saft, nachdem er sauerstofffrei geworden, ist jedes Eindringen des atmosphärischen Sauerstoffs unmöglich. Ueberdies, falls der Glasstöpsel nicht hermetisch schliessen sollte, würde sich die Pyrogallollösung mit der in der Kugel befindlichen Flüssigkeit vermischen und bei der ausgezeichnet antiseptischen Wirkung der ersteren jede Fäulniss sofort aufhören müssen. Ich habe Fäulnissversuche mit diesem Apparate öfters angestellt und regelmässig gesehen, dass schon nach 24 stündigem Stehen bei 40° die in der Kugel befindliche Flüssigkeit von Spaltpilzen erfüllt war und nach zweitägiger Digestion das Eiweiss in peptonartige Materien, Ammoniak und flüchtige Fettsäuren übergeführt wurde und einen eigenthümlichen, fauligen Geruch verbreitete, durchaus gleich demjenigen, wie er in verschiedenen stinkenden, pathologischen Flüssigkeiten, wie Abscessen, Eiterherden und Exsudaten, wo nachweislich keine Luft zutreten kann, vorkommt.

Fig. 4.

In einer dritten Versuchsreihe suchte ich eine derartige Anordnung zu treffen, dass die Fäulniss bei vollkommenem Sauerstoffausschluss verlaufen, und doch die gebildeten Fäulnissproducte entweichen konnten. Ich glaube, diesen Zweck durch einen Apparat erreicht zu haben, dessen beigegebene Abbildung (siehe Fig. 5) ohne weitere Erklärung verständlich ist. Die Beschickung des Apparates geschah wie folgt: Durch Eintauchen des Endes (*e*), das zweckmässig vorher an drei bis vier

Stellen verjüngt ausgezogen wird, in frischen pankreatischen Saft und gleichzeitiges Erwärmen des etwa ein Liter fassenden Kolbens (*a*) wurde die Luft ausgetrieben und der Kolben etwa zu zwei Drittel mit der fäulnissfähigen Flüssigkeit gefüllt, hierauf das Ende (*e*) mit der Luftpumpe verbunden und der Apparat, wie in den früheren Versuchen, vollkommen luftleer gemacht. Noch während des Saugens wurde das Rohr bei (*e*) zugeschmolzen und durch Abbrechen des zugeschmolzenen Endes in reinem Kohlensäure- oder Stickstoffgas der luftleere Apparat damit gefüllt, sodann das Ende in der Stickstoffatmosphäre zugeschmolzen, wiederum in einer alkalischen concentrirten Pyrogallollösung abgebrochen und durch Erwärmen des Apparates ein Theil des Stickstoffs herausgetrieben, bis die beiden Kugeln des U-förmigen Rohres (*b*) etwa zur Hälfte mit der Pyrogallollösung gefüllt waren. Nunmehr wurde der Kolben (*a*) im Wasserbade bei 40° gelassen, während das Ende (*e*) in Quecksilber tauchte.

Fig. 5.

Durch diesen Apparat wurde jeder Verschluss mittelst Kautschuk vermieden. Um dem Vorwurf zu entgehen, dass das Eintauchen der Spitze (*e*) in Quecksilber nicht hinreichend vor Luftzutritt schütze, befindet sich in dem U-Rohr die alkalische Pyrogallollösung, die ausserdem als Index für die Zuverlässigkeit des Verschlusses diente. Die hinzutretende Luft würde die klare, gelbbräunliche Lösung sofort dunkel gefärbt haben. Drei mit diesem Apparate auf obige Weise angestellte Versuche haben constant eine starke Gasentwickelung und alle die charakteristischen Producte der Eiweissfäulniss gegeben. Als Beispiel möge folgender Versuch dienen. 500 ccm Pankreasflüssigkeit, von welcher 5 ccm 0.1058 g trockenes Eiweiss enthielten, wurden auf die oben beschriebene Weise am 16. November 1878 aufgestellt. Am folgenden Tage starke Gasentwickelung. Die entweichenden Gasblasen sind sehr stinkend, angezündet verpuffen sie und enthalten viel Wasserstoff. Am 24. November hörte die Gasentwickelung auf. Am 26. wurde der Kolben geöffnet und die Fäulnissorganismen mikroskopisch untersucht. Die hier vorgefundenen eigenthümlichen Formen sind auf Tafel IV, Fig. 2 abgebildet. Die im Kolben enthaltene Flüssigkeit, von stark fauligem, ammoniakalischem Geruch und alkalischer Reaction, coagulirt nicht beim Kochen. Mit Kupfersulfat und Natronlauge versetzt, zeigt sie die für Peptone charakteristische Biuretreaction. Ich erhielt aus der faulenden Flüssigkeit 0.0472 g pikrinsaures Indol, daneben viel flüchtige Fettsäuren, und wenn der Säuregrad auf die Buttersäure bezogen wird, die den Hauptbestandtheil ausmachte, 26 Proc. von dem Gewichte des trockenen Eiweisses; ausserdem viel Ammoniak, wenig Leucin und kein Tyrosin.

Wie aus dem Mitgetheilten ersichtlich, ist in allen von mir angestellten Versuchen, wo von Anwesenheit oder Zutritt von Sauerstoff nicht die Rede sein kann, regelmässig Fäulniss eingetreten. Dieses Ergebniss steht in Widerspruch mit den Ergebnissen Gunning's, welcher in Hefeabkochung, Bouillon und Fleisch,

nachdem dieselben mit einem Tropfen faulendem Erbsen- und Eiweisswasser inficirt, sodann luftleer in zugeschmolzenen Kölbchen aufbewahrt wurden, die Fäulniss gänzlich ausbleiben sah. Uebereinstimmend dagegen mit ihm habe ich gesehen, dass in zugeschmolzenen oder hermetisch geschlossenen Gefässen die Fäulniss früher oder später aufhört. Man sieht, dass die Flüssigkeit nach einiger Zeit vollkommen klar wird. Da die entstandenen Gase nicht entweichen können, so liegen die gebildeten Mikroorganismen am Boden des Gefässes, und der Gasdruck wird nach längerem Stehen nicht stärker. Ich zweifle nicht daran, dass die Ursache des Aufhörens der Fäulniss hier in der Anhäufung flüchtiger Producte über ein gewisses Maass hinaus zu suchen ist.

Die neueren Untersuchungen haben gezeigt, wie zahlreich und mannigfaltig die Spaltungsproducte der Proteïnsubstanzen durch die Fäulniss sind. Während z. B. bis vor Kurzem das Tyrosin als das einzige aromatische Spaltungsproduct des Eiweisses bekannt war, wurden Indol, Skatol, Phenol, Kresol, Phenylpropionsäure und Phenylessigsäure als Producte der Eiweissfäulniss bis jetzt isolirt; aus Leim erhielt ich allem Anscheine nach eine aromatische, dem Aldehydcollidin isomere Base. Nicht minder zahlreich wird jedenfalls die Anzahl der im Verlaufe der Eiweissfäulniss aus der Gruppe der Fettkörper entstehenden Producte sein. Von Indol und Phenol ist es bekannt, dass sie fäulnisswidrig sind; auch werden sie dabei in solchen Mengen gebildet, die hinreichend sind, jede Fäulniss zum Stillstand zu bringen. Phenol und Indol entstehen aus dem Leime nicht; da aber in Leimlösungen in zugeschmolzenen Gefässen die Fäulniss nach einiger Zeit aufhört, so bin ich der Ansicht, dass auch hier bis jetzt nicht isolirte, antiseptische Materien entstehen müssen. Beim Oeffnen der mit Leimlösungen gefüllten und der Fäulniss bei Luftausschluss überlassenen Kölbchen macht sich ein widriger, altem fauligem Käse ähnlicher Geruch bemerkbar. Nach alledem halte ich dafür, dass *ähnlich wie bei den höher organisirten Wesen auch bei den Spaltpilzen ihre eigenen Ausscheidungsproducte für sie Gifte sind.* Unser Verfahren, bei Ausschluss von Sauerstoff Eiweiss der Fäulniss zu überlassen, jedoch so, dass die Gase und flüchtigen Fäulnissproducte entweichen können, sind alle derart, dass der letzteren Bedingung nur sehr unvollkommen Rechnung getragen wird, und diesem Umstande ist es gewiss auch zum Theil zuzuschreiben, dass die Fäulniss bei Luftausschluss langsamer als in offenen Gefässen verläuft. Es wäre ein kindlich-naiver Standpunkt, zu verlangen, dass durch Aussaat einiger Tropfen, wo uns das Alter und Entwickelungsstadium der darin enthaltenen Organismen nicht bekannt sind, auch unter den ungünstigsten Verhältnissen nothwendig Fäulniss eintreten muss. Je mehr unsere Kenntnisse über die Lebensbedingungen der Spaltpilze fortschreiten werden, um so mehr wird es sich herausstellen, dass das Aufkommen und Gedeihen derselben an ganz bestimmte, jetzt anscheinend gleichgültige Bedingungen geknüpft sind. Die von mir angestellten Versuche, wo der Luftzutritt durch Quecksilber und Pyrogallollösung abgesperrt war, und jeder Korkverschluss vermieden wurde, bestätigen aber die Resultate *Jeanneret's*. Sobald die flüchtigen Fäulnissproducte entweichen können, wird das Eiweiss zersetzt unter Bildung der für die Fäulniss charakteristischen Producte und in gleichen Mengen, wie *Jeanneret* sie gefunden hat. Die

sache, weshalb in einigen Versuchen Gunning's die Fäulniss gänzlich ausblieb, eint mir darin zu liegen, dass, wenn auch, wie Gunning angiebt, in dem infinden Tropfen fast alle Bacterienformen repräsentirt waren, der Tropfen doch ht diejenigen Formen der Spaltpilze oder deren Keime enthalten konnte, welche Sauerstoffs zu ihrem Leben und zur Zersetzung der Nährlösung nicht bedürfen. meiner Arbeit über den chemischen Mechanismus der Fäulniss [1]) habe ich bereits gegeben, dass nicht alle Formen der Spaltpilze bei Luftausschluss leben können. legentlich einer Untersuchung, welche vor zwei Jahren in meinem Laboratorium rr Dr. Kauffmann in der Absicht unternommen hat, nur eine von den veriedenen Formen der Spaltpilze zu isoliren und dann ihre Entwickelungsgeschichte tersuchen zu können, habe ich gesehen, dass z. B. die 10 bis 20 Mikrometer igen Bacillen, welche an der Oberfläche faulender Flüssigkeit auftreten und durch e schlangenartige Eigenbewegung sich auszeichnen, zu ihrem Leben absolut des uerstoffs, wenn auch in geringen Mengen, bedürfen. Man findet sie daher auch ers in lose verschlossenen, bei gewöhnlicher Temperatur faulenden Eiweisslösungen. se Bacillen sind verhältnissmässig am leichtesten frei von Coccen, Mikrobacterien l anderen Spaltpilzformen zu erhalten. Bringt man nun mehrere Tropfen einer ssigkeit, die bei der mikroskopischen Untersuchung nur die Bacillen enthielt, in dünnte Eiweisslösungen bei Luftausschluss, so tritt, falls die Lösung durch vorjges Auskochen von Sauerstoff befreit wurde, keine Fäulniss ein. Enthielt die ırlösung gelösten Sauerstoff, so tritt schwache Gasentwickelung ein, bis der ıerstoff vollkommen verbraucht worden. Man sieht dann, dass die Spaltpilze zu len fallen, die Flüssigkeit sich klärt; die Fäulniss hört für immer auf. Auch die :robacterien, meistens kurze, ovale Stäbchen von 2 bis 5 Mikrometer Länge — gewöhnliche Form der Fäulnissorganismen — sind Luftspaltpilze. Sie befinden ı gewöhnlich an der Oberfläche faulender Flüssigkeiten, wobei sie sich durch ertheilung vermehren und die charakteristischen Kettenformen (Bactéries articulées champ's) bilden. Frisches Ochsenpankreas enthält allem Anscheine nach die ime auch dieser Mikrobacterien. Bei Luftausschluss bewirken sie Fäulniss; jedoch mehren sie sich alsdann nicht durch Quertheilung, sondern sie treiben Sporen d erscheinen dann als die sogenannten Köpfchenbacterien. Zu den anaëroben rmen par excellence gehören die Coccen, wenn auch wohl hier nur Luftformen rkommen mögen, die jedoch mit unseren jetzigen Hülfsmitteln von den anaëroben ›rmen nicht zu unterscheiden sind. Schon vor 16 Jahren hat Pasteur [2]) den nterschied zwischen der Fäulniss bei Sauerstoffzutritt und Ausschluss hervorhoben. Es ist ihm, wie auch Jedem, der nach Pasteur sich mit Untersuchungen ›er die Fäulniss beschäftigte, aufgefallen, dass die Fäulniss in offenen Gefässen, so bei Luftzutritt, sich zunächst durch Auftreten eines zarten Häutchens an der berfläche documentirt, das sich allmählich verdichtet und sodann in Fetzen zu oden des Gefässes fällt. „Dieses Häutchen, sagt Pasteur weiter, dem sich geöhnlich noch verschiedene Mucors und Mucedineen zugesellen, hindert die Auf-

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **17**, 124. — Dieser Band S. 388.

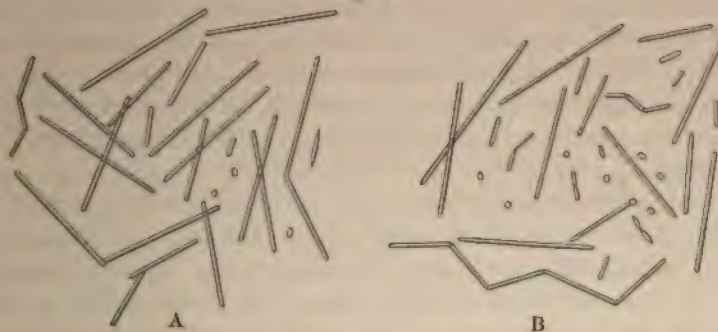
[2]) Compt. rend. 1863, **56**, 1189.

lösung des Sauerstoffs in der Flüssigkeit, und so macht sie die Entwickelung der Fermentvibrionen möglich. Für die letzteren ist dann das Gefäss wie vor der Sauerstoffzufuhr verschlossen. Sie können sich sogar in dem auf der Oberfläche schwimmenden Häutchen vermehren, da sie hier vor der zu directen Einwirkung des atmosphärischen Sauerstoffs durch die Bacterien und Mucors geschützt sind. Die faulende Flüssigkeit wird auf diese Weise Sitz zweier ganz verschiedener chemischer Processe, die in directem Verhältniss zu der physiologischen Thätigkeit der zwei Arten darin sich ernährender organirter Wesen stehen. Einerseits bedingen die Vibrionen, die ohne Zuthun des atmosphärischen Sauerstoffs leben, im Innern der Flüssigkeit die Fermentationsvorgänge, d. h. sie verwandeln die stickstoffhaltige Materie in einfachere, jedoch noch complicirt zusammengesetzte Producte; andererseits verbrennen die Bacterien (oder Mucors) diese Producte und führen sie in die einfachsten binären Verbindungen, wie Wasser, Ammoniak und Kohlensäure über."

Fig. 6.

Ich habe vielfach den Verlauf der Fäulniss, sowie das Auftreten und die Entwickelung der sie bewirkenden Spaltpilze bei gewöhnlicher oder Bruttemperatur verfolgt und kann im Allgemeinen die oben citirte Angabe Pasteur's bestätigen. Untersucht man mikroskopisch das an der Oberfläche zuerst sichtbare irisirende Häutchen, so ergiebt sich, dass es aus sehr kleinen Kügelchen (Sporen?), in einer homogenen, schleimigen Masse eingebettet, besteht, die sich in kurzer Zeit, noch innerhalb der schleimigen Masse, entweder zu kurzen Stäbchen (Mikrobacterien) oder zu längeren Bacillen gestalten. Die letzteren treten am häufigsten auf, wenn die Flüssigkeit nicht bei 40°, sondern bei gewöhnlicher Temperatur fault. Das Häutchen breitet sich sehr rasch über die ganze Oberfläche aus. Die anfangs in der schleimigen Masse befindlichen Bacterien trennen sich aus einander, werden beweglich, und nun treten die kettenförmigen Stäbchen auf (Bactéries articulées Béchamp's). Durchbricht man zu dieser Zeit das Häutchen, so ist der Unterschied in den Formen der Spaltpilze ein wirklich auffallender. Während an der Oberfläche nur die Mikrobacterien oder Bacillen sichtbar sind, zeigt ein aus der Tiefe herausgenommener Tropfen fast nur die Coccen, die entweder einzeln oder zu zweien, dreien oder als mehrgliedrige Ketten das Gesichtsfeld erfüllen. Die beistehende Zeichnung, Fig. 6, veranschaulicht den Unterschied in der Form der Spaltpilze an der Oberfläche (A)

und in der Tiefe (B) einer faulenden Eiweisslösung. Die Zeichnung entstammt einer am 21. Mai 1878 aufgestellten Flüssigkeit. Es wurden 2330 g frisches Pankreas und 500 g Muskelfleisch von Fett befreit und, klein zerhackt, mit 8 Liter Brunnenwasser übergossen und bis zum 15. October in einem lose zugedeckten Topfe der Fäulniss bei Zimmertemperatur überlassen. Am 2. Juni ist an der Oberfläche eine dicke, mit dünnem Glasstabe kaum durchzubrechende Kruste entstanden. Die Flüssigkeit stinkt intensiv. Ein Tropfen von der Oberfläche derselben zeigt fast nur schlangenartig sich bewegende Bacillen von 10 bis 20 Mikrometer Länge (siehe Fig. 6, A). Im ganzen Gesichtsfelde konnte ich kaum ein paar Coccen entdecken, keine Torulaformen. Dagegen der Tropfen (B) aus der Tiefe der Flüssigkeit zeigt fast nur Coccen, meistens einzeln, daneben viele 2-, 3- und mehrgliedrige Coccenformen. Die Grösse der einzelnen Coccen beträgt durchschnittlich 1 Mikrometer im Durchmesser. Mit der Zeit bricht die an der Oberfläche befindliche Kruste,

Fig. 7.

welche allerdings vollkommen den Zutritt des atmosphärischen Sauerstoffs zu den tieferen Schichten der Flüssigkeit abschliessen kann. Sie fällt in Fetzen zu Boden und der Luftzutritt ist nicht mehr gänzlich behindert. Demzufolge zeigt auch das mikroskopische Bild durchaus nicht mehr den Unterschied in den Formen der Spaltpilze. Die gleiche Flüssigkeit am 28. Juni, also 26 Tage später, mikroskopisch untersucht, zeigte folgendes Bild: siehe Fig. 7, A an der Oberfläche, B in der Tiefe. An der Oberfläche sehr bewegliche, meistens 20 Mikrometer lange Bacillen, wenig Mikrobacterien von 2 bis 5 Mikrometer Länge. In der Tiefe viele Mikrobacterien, sowie Bacillen, daneben Coccen von 0,5 bis 3 Mikrometer im Durchmesser. Keine Torulaformen. Die Bacterien lebhaft beweglich. — In noch späteren Stadien der Fäulniss existirt ein Unterschied zwischen der Oberfläche und der Tiefe nicht mehr. Man findet überall gleichmässig Mikrobacterien, Bacillen und kleine Kügelchen vertheilt. Höchstens auf dem Boden des Gefässes finden sich überwiegend Coccen neben den sogenannten Köpfchenbacterien, die ich als anaërobe Form der Stäbchen betrachte. Ich erhielt aus dieser Flüssigkeit, als sie am 15. October verarbeitet wurde, 0.31 g Skatol, die gleiche Substanz, welche Brieger aus menschlichen Excrementen isolirte.

Ganz ähnlich gestaltet sich das Bild, wenn die Eiweisslösung statt bei gewöhnlicher Temperatur bei 40° mit Pankreas fault. Nur ist der Verlauf ein viel rascherer.

Den Unterschied in der Form der an der Oberfläche und in der Tiefe lebenden Spaltpilze sieht man am deutlichsten am zweiten bis vierten Fäulnisstage, und schon öfters nach achttägiger Fäulniss sind die Bacterien in der Flüssigkeit gleichmässig vertheilt.

Ich habe schon angedeutet, dass die Coccen diejenige Form der Spaltpilze sind, welche bei Luftabschluss zu leben vermögen. In allen vorhin angeführten Versuchen, wo ich entweder in luftleeren, zugeschmolzenen Glaskölbchen oder bei Ausschluss des Sauerstoffs Proteïnsubstanzen der Fäulniss überliess, habe ich regelmässig gesehen, dass die Coccosformen bei Weitem die überwiegende Menge der geformten Fermente ausmachen. Auf Taf. IV, Fig. 1 habe ich die Spaltpilze, welche im zugeschmolzenen Kölbchen bei Luftausschluss entstanden sind, abgebildet. Fig. 2 auf gleicher Tafel stellt die eigenthümlichen Formen dar, welche in dem auf Seite 439, Fig. 5 abgebildeten Apparate bei Sauerstoffausschluss nach 8 Tagen entstanden sind. Ausser den kleinsten Coccen sieht man hier solche von 3 bis 5 Mikrometer im Durchmesser mit stielartigen Fortsätzen. Manchmal hängen an einem Stiel je zwei der grossen Coccen, so dass das Ganze das Aussehen einer Hantel hat. Diese grösseren Coccen sind homogen, blassgelb, ohne körnigen Inhalt. Die Coccen und Köpfchenbacterien treten so regelmässig bei fehlendem oder ungenügend vorhandenem Sauerstoff auf, dass sie mit Sicherheit als eine anaërobe Form der Spaltpilze aufzufassen sind.

Als einen ferneren Beweis und zugleich als Beitrag zur Kenntniss der Lebensbedingungen der anaëroben Coccen will ich hier folgenden von Dr. Kauffmann ausgeführten Versuch anführen. Die Anordnung desselben war die gleiche, wie sie Jeanneret[1]) in seinen Versuchen über Fäulniss bei Luftausschluss getroffen hat. Am 10. März 1878 wurden 230 g Gelatine als 10 proc. Lösung durch längeres Kochen in einem Kolben zunächst von absorbirter Luft befreit. Sodann wurde der Stöpsel gelüftet, zu der siedend heissen Lösung 10 g ein Tag altes Pankreas zugefügt und der Stöpsel gleich wieder aufgesetzt. Nach langsamer Abkühlung des Kolbens wurde derselbe in ein auf 40° erwärmtes Wasserbad gebracht. Erst am dritten Tage, am 13. März, begann sich die Lösung zu trüben und eine sehr schwache Gasentwickelung trat ein, so dass bis zum 21. März nur 33 ccm Gas entwickelt wurden. Das Gas war nicht brennbar und bestand fast nur aus Kohlensäure. Am 22. März stellte sich plötzlich eine starke Gasentwickelung ein, so dass von jetzt an täglich das Gas zur Untersuchung aufgefangen wurde. Eine vollständige Gasanalyse konnte nicht ausgeführt werden, und wurden nur die relativen Mengen der von Kalilauge absorbirbaren und nicht absorbirbaren Mengen bestimmt; jedoch bestand das nicht absorbirte Gas fast nur aus Wasserstoff. Nebenstehende Tabelle zeigt die Menge des täglich aufgefangenen Gases.

Das an den folgenden Tagen aufgefangene Gas wurde durch Kalilauge völlig absorbirt. Die Gasentwickelung dauerte bis zum 12. April, also 27 Tage. Sodann stieg das Quecksilber in dem Ableitungsrohr zurück und am 17. April wurde die Flüssigkeit chemisch und mikroskopisch untersucht. Hervorzuheben ist, dass, im

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **15**, 353. — Dieser Band S. 246.

| Datum | Aufgefangene Gasmenge in ccm | Nicht absorbirt | Absorbirt in Proc. | Nicht absorbirt in Proc. |
|---|---|---|---|---|
| 22. März | 38.5 | 1.0 | 97.41 | 2.59 |
| 23. " | 04.5 | 4.8 | 92.41 | 7.59 |
| 24. " | 59.5 | 11.1 | 81.34 | 18.66 |
| 25. " | 47.5 | 10.5 | 77.90 | 22.10 |
| 26. " | 51.8 | 12.2 | 76.45 | 23.55 |
| 27. " | 54.8 | 5.2 | 90.52 | 9.48 |
| 28. " | 46.8 | 0.8 | 98.30 | 1.70 |
| 29. " | 58.0 | 0.4 | 99.32 | 0.68 |
| 30. " | 39.8 | 0.1 | 99.75 | 0.25 |

Gegensatz zu Jeanneret, welcher bei der Gelatinefäulniss nur minimale Mengen durch Kali nicht absorbirbarer Gase fand, hier sehr viel Wasserstoff, bis zu 23 Proc., entstand. Die intensiv stinkende Flüssigkeit von alkalischer Reaction wurde filtrirt. Auf dem Filter bleibt ein schwarzbrauner Rückstand, aus den gebildeten Spaltpilzen bestehend. Spärliche kürzere und längere Stäbchen, vereinzelte Köpfchenbacterien. Die Hauptmenge aber bilden Kugelbacterien, sowohl vereinzelt, als auch zu zwei-, vier- und mehrgliederigen Ketten vereint. Die filtrirte klare Flüssigkeit (2670 g) wird in einer tubulirten Retorte mit einer Lösung von 250 g Barythydrat versetzt und destillirt. Das in Salzsäure aufgefangene Destillat ergab 14.13 g Stickstoff = 17.15 g Ammoniak oder 7.46 Proc. $NH_3$ von dem Gewichte der angewandten Gelatine. Nach Ausfällung des Baryts im Retortenrückstande und Destillation mit $SO_4H_2$ wurden die flüchtigen Fettsäuren isolirt. Sie bestanden vorwiegend aus Essigsäure. Wird der Säuregrad auf die letztere bezogen, so wurden von dem Gewichte der Gelatine 24.43 Proc. Essigsäure erhalten. Aus der von Ammoniak und Säure freien Lösung wurden ausser peptonartigen Materien noch 11 g Glycocoll erhalten.

Es ergiebt sich hieraus, dass die bei Luftausschluss lebensfähigen Coccen der Siedehitze widerstehen können, und ich könnte kaum ein schöneres Beispiel dafür anführen, dass die Spaltpilze bei Luftausschluss Zersetzung grosser Mengen organischer Substanz nicht nur hervorrufen, sondern sie auch, wie bei Luftzutritt, vollenden können. Alle meine Versuche bestätigen die Ansicht Pasteur's, dass die Mikroorganismen ohne freien Sauerstoff leben können und eben deshalb die Gährung und die Fäulniss hervorrufen. Der angeführte Versuch mit Gelatine, sowie die oben mitgetheilten Versuche stellen es ausser allen Zweifel, dass, sobald die zur Aussaat benutzten Keime der Spaltpilze frisch und jung sind, und die Möglichkeit für das Entweichen der flüchtigen Fäulnissproducte geboten ist, regelmässig die Fäulniss eintreten muss. Auf welche Weise die Zersetzung der Proteïnsubstanzen bei Luftausschluss geschieht, habe ich in meiner Abhandlung: „Ueber den chemischen Mechanismus der Fäulniss" gezeigt. Allerdings bin ich der Ansicht, dass bei der Fäulniss der Proteïnsubstanzen bei Luftausschluss Producte gebildet werden, wie z. B. Glycocoll, Buttersäure, Essigsäure, Phenol, Indol u. s. w., welche nicht weiter in noch einfachere Verbindungen übergeführt werden können. Einige von ihnen,

wie z. B. Essig- oder Buttersäure, können erst durch die nur an der Luft lebensfähigen Spaltpilze — mit Hülfe des atmosphärischen Sauerstoffs — zu Kohlensäure und Wasser verbrannt werden. Die Fäulniss der Proteïnsubstanzen ist darin der Alkoholgährung gleich. Aehnlich wie durch die Hefe der Zucker zu Alkohol und Kohlensäure umgewandelt wird und mit der vollständigen Ueberführung des Zuckers in die obigen Producte die Alkoholgährung vollendet ist, so verhält es sich mit der Fäulniss. Für beide Processe ist der Zutritt oder Ausschluss des Sauerstoffs gleichgültig. So wie der aus Zucker entstandene Alkohol durch die nur an der Luft vegetirenden Pilzformen zu Essigsäure und schliesslich zu Kohlensäure und Wasser oxydirt wird, ebenso werden bei Luftzutritt die durch die Fäulniss gebildeten Fettsäuren, sowie gewisse Amidosäuren durch bestimmte Formen der Spaltpilze zu Kohlensäure, Wasser und Ammoniak verbrannt.

Lässt man Lösungen von Proteïnsubstanzen an der Luft faulen, so sind sie gleichzeitig der Einwirkung der anaëroben Formen in der Tiefe der Flüssigkeit und der Luftspaltpilze an der Oberfläche ausgesetzt. So erklärt es sich, weshalb schon in den ersten Stunden der Fäulniss, wo noch viel unzersetztes, in der Siedhitze coagulirendes Eiweiss vorhanden ist, bereits auch die einfachsten Producte: wie Kohlensäure und Ammoniak, sich vorfinden. Ein Theil der entstandenen Kohlensäure und des Ammoniaks rührt jedenfalls von der Thätigkeit der anaëroben Fermente her, da bekanntlich bei der Hydratation der Eiweisskörper stets Kohlensäure und Ammoniak, und zwar im Verhältniss wie 1 : 2 (Schützenberger) abgespalten werden. Die Producte, welche aus Eiweiss durch die anaëroben Spaltpilze gebildet werden, entsprechen denen, welche auch durch Schmelzen von Eiweiss mit Kalihydrat erhalten werden. Der chemische Mechanismus ist in beiden Fällen der gleiche. Dass aber ein anderer Theil der bei der Fäulniss auftretenden Kohlensäure erst durch Zutritt des atmosphärischen Sauerstoffs entsteht, kann leicht auf folgende Weise demonstrirt werden: Ein mit Eiweisslösung und etwas Pankreassaft zur Hälfte gefülltes Kölbchen wird, nachdem es luftleer ausgepumpt worden, zugeschmolzen und der Fäulniss bei 40° überlassen. Nach einigen Tagen ist ein Theil des Eiweisses in Peptone, Amidosäuren, Ammoniaksalze der flüchtigen Fettsäuren und der Kohlensäure, in Indol u. s. w. übergeführt worden. Beim Oeffnen des Kölbchens entweicht nur wenig Gas, das reichlich Wasserstoff enthält. Schmilzt man nun jetzt, wo Luft hinzugetreten, von Neuem das Kölbchen zu, so ist nach mehrtägiger Digestion bei 40° aller Sauerstoff verschwunden, beim Oeffnen des Kölbchens entweicht viel Gas, das vorwiegend aus Kohlensäure besteht.

Wohl nirgends sind die Bedingungen für die Fäulniss bei Sauerstoffausschluss so günstig, als wie im Dickdarme des Menschen und der höheren Thiere. Dass die Fäulniss hier bei völligem Sauerstoffabschluss vor sich geht, halte ich für sehr wahrscheinlich. Mit den Speisen verschluckter atmosphärischer Sauerstoff gelangt nicht bis hierher; er wird bereits im oberen Theil des Dünndarms vollkommen aufgezehrt. Die Dünndarm- und vollends die Dickdarmgase enthalten keine Spur Sauerstoff mehr, wie dies aus verschiedenen Analysen hervorgeht. Dass dem Oxyhämoglobin

den Capillaren der Dickdarmschleimhaut durch die im Lumen des Darmrohres
rhandenen Fäulnissorganismen Sauerstoff entzogen werden könnte, ist nicht
ahrscheinlich, wenn ich auch zugeben will, dass der directe Beweis hierfür noch
liefern ist. Aus den Versuchen Kauffmann's[1]) geht aber hervor, dass die
s Oxyhämoglobin führenden Blutkörperchen, ähnlich wie Ozon, den Fäulniss-
ganismen deletär sind. Wenn demnach im Dickdarm der Thiere keine Spur freien
uerstoffs vorhanden ist, und trotzdem nachgewiesenermaassen hier der Hauptsitz
r Fäulnissprocesse ist, so haben wir in dem Umstande, dass die Fäulnissproducte
n der Darmschleimhaut aus bald resorbirt werden und so die Anhäufung der-
lben vermieden wird, einerseits den einfachsten Beweis der Anaërobiose der Fäulniss-
cterien und andererseits die einfachste Erklärung, weshalb in sauerstofffreien, aber
ugeschmolzenen Gefässen die Fäulniss nach einiger Zeit aufhören muss.

Der menschliche Organismus bietet in gewissen pathologischen Verhältnissen
inen weiteren Beweis dafür, dass in dem Maasse, als das Entweichen der Fäulniss-
roducte behindert ist, der Gang der Fäulniss ausserordentlich verlangsamt, oder
uch zum Stillstand gebracht werden kann. Es sind dies Fälle, wo aus verschieden-
en Ursachen Ansammlungen von serösen Flüssigkeiten oder Eiter im Körper vor-
ommen, dort der Fäulniss unterliegen, und indem der angesammelte Eiter gegen
e nächste Umgebung durch fibrinöse Ablagerungen von dem umgebenden Gewebe
gegrenzt wird, ein abgeschlossener Sack entsteht, aus welchem entweder gar nicht
ler nur schwierig die Fäulnissproducte entweichen können. Zum besseren
erständniss will ich hier zwei derartige Fälle anführen, wo ich den Eiter durch
e Freundlichkeit meiner Collegen, Prof. Demme und Prof. Lichtheim, wenige
inuten nach der Entleerung untersuchen konnte.

Frau H., 28 Jahre alt, erkrankte am 3. October 1877 an den Symptomen
ner acuten Cystitis. Am 23. Septbr. 1878 machte sich zum ersten Male deutlicher
ne Geschwulst in der linken Lendengegend bemerkbar. Am 23. November des
leichen Jahres wurde die Geschwulst punktirt und etwa ein halbes Liter eines
usserst stinkenden Eiters entleert. Am 8. December erfolgte der Tod unter all-
nählicher Erschöpfung der Kräfte. Die Section ergab: Caries der zwei untersten
rust- und des obersten Lendenwirbels, Tuberculose der linken Niere, enormer
ongestionsabscess in der linken Lendengegend, tuberculoses Ulcus der hinteren
lasenwand in der Nähe der Einmündung des linken Harnleiters. Den am
3. November entleerten Eiter habe ich sofort mikroskopisch untersucht und auf
af. IV, Fig. 3 abgebildet. Man sieht nur Eiter-, keine rothen Blutkörperchen. Die
iterkörperchen sind entweder mit Coccen bedeckt oder auch in eine formlose,
benfalls mit Coccen bedeckte Masse verwandelt. Man sieht dann sowohl vereinzelte
occen von 0.5 bis 1 Mikrometer im Durchmesser, als auch Diplococcen und ganze
occencolonien. Von anderen Spaltpilzformen sind nur kurze Stäbchen von
bis 8 Mikrometer Länge, einige davon als Köpfchenbacterien vorhanden. Der
esammteiter wurde mit 50 g in wenig Wasser gelöster Oxalsäure angesäuert, wobei
ohlensäure entwich; hierauf mit dem gleichen Volumen Aether geschüttelt, der

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **17**, 79. — Dieser Band S. 359.

abgegossene Aether bis auf ein kleines Volumen abdestillirt, sodann mit Natronlauge versetzt und von Neuem mit wenig Aether übergossen. Die ätherische Lösung wurde von dem Fett und abgeschiedenen Natronseifen filtrirt, der Aether in einer kleinen Retorte verdunstet, schliesslich mit Wasser versetzt und destillirt. Mit den Wasserdämpfen verflüchtigte sich Indol, das sich in der Vorlage krystallinisch absetzte, im Ganzen 0.023 g. Doch war in den Laugen noch mehr davon vorhanden. Durch Ansäuern des Retortenrückstandes mit verdünnter Schwefelsäure und erneuertes Destilliren wurde Phenol mit den Wasserdämpfen verflüchtigt, wovon ich nach der Fällung mit Bromwasser 0.019 g Tribromphenol erhielt.

Johann H., 70 Jahre alt, erkrankte acut am 14. Januar 1879; am 15. konnte man einen Erguss in die rechte Pleurahöhle nachweisen. Am 27. wurden durch Punction 1750 ccm stinkenden Eiters aus der Pleurahöhle entleert. Patient starb am 31. Januar. Wie die Section ergab, stand der pleuritische Erguss im Zusammenhange mit einem Abscess der Lendengegend, der wahrscheinlich die Folge eines Schlages war, den Patient vor $1^1/_2$ Jahren erhalten hat. Aus dem stinkenden Eiter, auf die gleiche Weise wie im vorhergehenden Falle behandelt, erhielt ich 0.082 g Indol und 0.0284 g Tribromphenol = 0.0080 g Phenol. Die am Tage vor der Punction gesammelte 24 stündige Harnmenge, mit verdünnter Schwefelsäure destillirt, ieferte 0.807 g Tribromphenol = 0.2291 g Phenol. Hervorheben möchte ich, dass hiermit überhaupt zum ersten Male aus stinkenden, eitrigen Abscessen neben Phenol Indol in Substanz erhalten worden ist. Die im Eiter des an purulenter Pleuritis verstorbenen Mannes vorgefundenen Mikroorganismen sind auf Taf. IV, Fig. 4 abgebildet. Die Eiterkörperchen sind mit Coccen bedeckt und nur spärliche Eiterzellen sind zerstört und zu formlosen Klumpen verwandelt. Die Mikroorganismen sind einzig und allein durch vereinzelte Coccen vertreten. Im ganzen Gesichtsfelde war nur ein Diplococcos (*a*) und ein Tetracoccos (*b*) zu finden. Aehnlich also wie in den künstlichen Fäulnissversuchen bei Sauerstoffausschluss finden sich auch hier im Eiter, wohin kein Sauerstoff gelangen kann, die gleichen Organismen — nämlich Coccen. Aus dem Umstande, dass die meisten Eiterkörperchen ihre Form beibehalten haben, obgleich die Eiteransammlung monatelang bestand, ergiebt sich, dass die Fäulniss in solchen abgeschlossenen Eiterhöhlen ausserordentlich langsam verlaufen muss.

In meinen früheren Publicationen habe ich mehrfach hervorgehoben, dass die Fäulniss bewirkenden Mikroorganismen nicht allein im Darmrohr, sondern deren Keime auch in lebendigen, gesunden Geweben des Thierkörpers enthalten seien: zumeist in den beiden, durch ihre Ausführungsgänge mit dem Darmrohr communicirenden Drüsen, dem Pankreas und der Leber. Dagegen habe ich stets betont, dass weder im Blute, noch in den Geweben gesunder Menschen oder Thiere jemals Fäulniss stattfindet. In Uebereinstimmung mit Nägeli glaube ich, dass, so lange die normalen chemischen und physikalischen Vorgänge in den Zellen des Thierkörpers verlaufen, eben diese Lebensprocesse der Zellen das Aufkommen des Lebens der Spaltpilze behindern. Nur in Höhlungen, Flüssigkeiten oder festen Geweben, wie im Darmcanal, pathologischen Exsudaten, sowie abgestorbenen oder krankhaft stark afficirten Geweben können die Spaltpilze, weil eine Concurrenz der thierischen Zellen nicht besteht oder zu schwach ist, entsprechend den gegebenen Ernährungs-

verhältnissen, sich vermehren und die ihnen eigenthümlichen Producte bilden. Als Bestätigung dieser Ansicht können die beiden oben angeführten Fälle dienen. Wir sehen hier in dem kleinen Becken, resp. in der Pleurahöhle eine unzählige Menge von Coccen, welche, indem sie die Eiterkörperchen zersetzen, alle für die Fäulniss charakteristischen Producte bilden. Dass aber in krankhaft afficirten Theilen nicht immer Fäulniss eintreten muss, beweist schon das häufige Vorkommen von pathologischen Flüssigkeiten, in denen weder Mikroorganismen, noch die charakteristischen Fäulnissproducte zu finden sind.

Auf welchem Wege die Mikroorganismen in solche Theile unseres Körpers gelangen, wo von Luftzutritt nicht die Rede sein kann, bleibt vorläufig eine unbeantwortete Frage. Allein die Annahme halte ich für berechtigt, dass sie wie beim kranken, so auch beim gesunden Menschen vom Darme aus, vielleicht durch die Lymphgefässe, in die entlegensten Theile des Körpers gelangen können, und nur deshalb in gesunden Theilen keine Fäulniss bewirken, weil die Lebensprocesse der Zellen sie daran hindern. Dass die Fette vom Darme aus nicht als Seifen, sondern als Emulsion in Form kleinster Tröpfchen resorbirt werden, wird von Niemandem mehr bezweifelt. Weshalb sollten dann nicht auch die Coccen, deren Durchmesser zum mindesten eben so klein oder noch kleiner ist, als der eines Fetttröpfchens, vom Darme aus in die Gewebe gelangen können? Es ist mir daher befremdend, dass das Vorkommen von Spaltpilzen oder deren Keimen in normalen Geweben des Thierkörpers trotz allen, namentlich von physiologischer Seite, hierfür beigebrachten Beweisen noch immer von den Mikrographen geleugnet wird. Es mag dies vielleicht dadurch bedingt sein, dass gerade das Blut, das nach meinen Beobachtungen in der Regel die wenigsten oder gar keine Spaltpilze enthält, am häufigsten daraufhin untersucht worden ist. Der gleiche Mikroskopiker [1]), welcher findet, dass selbst das destillirte Wasser fast niemals frei von Bacterien ist, giebt auf Grund seiner Untersuchungen mit Hülfsmitteln, die das Uebersehen von Bacterien und ihre Verwechslung mit gleich grossen, körnigen Massen nicht zulassen (?), an, „dass die Bacterien im Blut und in den Geweben des gesunden thierischen sowohl als menschlichen Organismus nicht vorkommen". Für mich bleiben die positiven Angaben von Tiegel, Burton Sanderson u. A., sowie meine eigenen Beobachtungen mehr beweisend, als die negativen Erfolge, welche die wenigen bisherigen Versuche gehabt haben, Spaltpilze in normalen Geweben durch Färben mikroskopischer Schnitte nachzuweisen.

Zum Schluss spreche ich Herrn Dr. Schaffer meinen aufrichtigen Dank aus für den Eifer und die Geschicklichkeit, mit welchen er mich bei der Ausführung dieser Versuche unterstützt hat.

Bern, im April 1879.

## Erklärung der Tafel IV.

Fig. I. Mikroorganismen entstanden in luftleeren zugeschmolzenen Kölbchen in 1 Proc. Leimlösung, mit einem Tropfen Pankreassaft versetzt, nach 20 tägiger Fäulniss bei 40°. Es sind hier vorwiegend einzelne Coccos von 0.5 bis 0.8 Mikrometer im

[1]) Dr. Robert Koch, Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten. Leipzig 1878. S. 22 und 37.

Durchmesser zu sehen. (*a*) Köpfchenbacterien. (*b*) eine Coccoscolonie. Die Coccos liegen in einer schleimigen Masse und die Colonie schwimmt als Ganzes mit dem Flüssigkeitsstrome.

Fig. II. Mikroorganismen, entstanden bei Sauerstoffausschluss nach 8tägiger Fäulniss bei $40^0$ des pankreatischen Saftes. (*a*) Coccos 0.5 bis 1 Mikrometer im Durchmesser. (*b*) Torulaform derselben. (*c*) Mikrobacterien 3 bis 5 Mikrometer im Durchmesser. (*d*) Köpfchenform derselben. (*f*) grosse Coccos von 3 bis 5 Mikrometer im Durchmesser, mit stielartigen Fortsätzen. (*e*) Hantelform derselben.

Fig. III. Eiter aus dem Abscess der an Nierentuberculose leidenden Frau. (*a*) Eiterkörperchen, mit Coccen bedeckt. (*b*) Eiterkörperchen, in eine formlose Masse verwandelt und mit Coccen bedeckt. (*c*) vereinzelte Coccen von 0.5 bis 1.0 Mikrometer im Durchmesser. (*d*) eine Coccoscolonie. (*f*) Bacterien von 3 bis 8 Mikrometer Länge.

Fig. IV. Eiter des an eitriger Pleuritis verstorbenen Mannes. Die Eiterkörperchen sind wie in Fig. III mit gleichen Coccosformen bedeckt. (*a*) Diplococcos. (*b*) Tetracoccos.

Die Bilder sind nach einer tausendfachen Vergrösserung (Leitz'sches Ocular III, Objectiv IX, Immersionssystem) gezeichnet.

---

# Vortheilhafte Darstellung der Phenolglycolsäure und über die Pyrogallotriglycolsäure

von

**Piero Giacosa.**

Journ. prakt. Chem. 19, 396.

Werden Phenol und Monochloressigsäure in äquivalenten Mengen auf dem Wasserbade bis zum Schmelzen erwärmt, und hierauf (auf je 1 Gewichtstheil Phenol) mit 4 Gewichtstheilen Natronlauge (spec. Gewicht 1.3) allmählich unter Umrühren versetzt, so findet eine heftige Reaction statt. Die Flüssigkeit kommt ins Sieden, und vor dem Erkalten erstarrt sie zu einem Krystallbrei, welcher das Natronsalz der von Heintz entdeckten Phenolglycolsäure (Phenyloxacetsäure) $C_8H_8O_3$ = $C_6H_5O—CH_2—COOH$ ist. Heintz[1]) erhielt diese Verbindung durch längeres Erhitzen von Phenolnatrium mit Monochloressigsäure auf $150^0$. Das erhaltene Product wurde in Wasser gelöst, mit Salzsäure angesäuert, und die Anfangs als braune, ölartige Flüssigkeit ausgefällte Phenolglycolsäure durch wiederholtes Umkrystallisiren aus lauwarmem Wasser gereinigt. Wie man sieht, ist das umständliche Verfahren von Heintz entbehrlich. Die Phenolglycolsäure wird in reichlicher Menge gewonnen, wenn das als Krystallbrei erhaltene Natronsalz auf dem Filter mittelst des Aspirators möglichst von der Lauge befreit, zwischen Fliesspapier abgepresst, sodann der Krystallkuchen in Wasser gelöst und mit Salzsäure zersetzt wird. Die Phenolglycolsäure scheidet sich Anfangs ölig ab, das Oel erstarrt aber bald krystallinisch. Schon

---

[1]) Pogg. Ann. **109**, 489.

nach einmaligem Umkrystallisiren aus lauwarmem Wasser ist die Säure vollkommen rein. Eine Kohlenwasserstoffbestimmung der über $SO_4H_2$ getrockneten Substanz ergab folgende Zahlen:

0.1866 g der Substanz gaben 0.4352 g $CO_2$ und 0.0941 g $H_2O$ oder 63.07 Proc. C und 5.60 Proc. H. Die Formel $C_8H_8O_3$ verlangt 63.15 Proc. C und 5.26 Proc. H.

Durch Auflösen der Säure in überschüssiger, heisser Kalilauge wurde beim Erkalten das in Nadeln krystallisirende, in Wasser leicht lösliche Kalisalz erhalten.

0.2568 g dieses bei 110° getrockneten Salzes gaben 0.1171 g $SO_4K_2$ oder 20.52 Proc. K. Die Formel $C_8H_7KO_3$ verlangt 20.58 Proc. K.

Die wässerige Lösung der Phenolglycolsäure, mit Bromwasser bis zur Gelbfärbung versetzt, giebt einen weissen, krystallinischen Niederschlag, welcher, einer Brombestimmung zufolge, die Monobromphenylglycolsäure $= C_6H_4BrO-CH_2-CO_2H$ ist.

0.1986 g der zweimal aus heissem Wasser umkrystallisirten und über $SO_4H_2$ getrockneten Substanz gaben 0.1595 g $AgBr = 0.0678$ g Br.

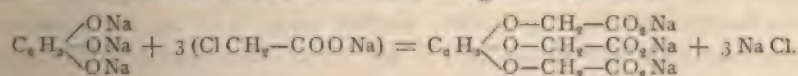
| Berechnet: | Gefunden: |
|---|---|
| 34.63 Proc. | 34.17 Proc. |

Ich habe gefunden, dass auf gleiche Weise, wie die Phenolglycolsäure aus Phenol und Chloressigsäure durch Erwärmen mit Natronlauge entsteht, ebenso aus anderen Phenolen die entsprechenden Glycolsäuren erhalten werden können.

Eine vorläufige Mittheilung von Fritsche[1]), welcher eine ausführliche Untersuchung der Phenolglycolsäure ankündigt, veranlasst mich, sowohl die Untersuchung dieser Säure, als auch die weitere Verfolgung der Reaction aufzugeben. Ich möchte nur hier über die mit Pyrogallol angestellten Versuche berichten, welche ich noch vor der Ankündigung Fritsche's unternommen habe.

Werden 12 Gewichtstheile Pyrogallol mit 30 Theilen Monochloressigsäure, also im Aequivalentverhältnisse wie 1 : 3, in einem offenen Kolben auf dem Sandbade geschmolzen, sodann allmählich mit 200 Gewichtstheilen Natronlauge (spec. Gewicht 1.3) versetzt und so lange gekocht, bis die Flüssigkeit unter Ausscheidung von Kochsalz zu stossen beginnt, so erhält man eine neue krystallinische Säure, welche ich ihrer Zusammensetzung entsprechend als Pyrogallotriglycolsäure bezeichnen will. Nach dem Erkalten der alkalischen Lösung wird die neue Säure durch so langes Zusetzen von verdünnter Salzsäure erhalten, bis die Reaction stark sauer geworden ist. Es scheiden sich in reichlicher Menge Krystallnadeln aus, die abfiltrirt und zwischen Fliesspapier getrocknet werden. Durch wiederholtes Umkrystallisiren, Anfangs aus verdünnter Salzsäure, sodann aus heissem Wasser, wird die Säure aschefrei und völlig rein erhalten.

Die Elementaranalyse der freien Säure und ihrer Salze zeigten, dass ihr die empirische Zusammensetzung $C_{12}H_{12}O_9$ zukommt. Diese Formel zeigt, dass alle drei Hydroxylwasserstoffe des Pyrogallols durch die Glycolsäuregruppe $CH_2-CO_2H$ ersetzt sind. Die Reaction verläuft also nach folgendem Schema:

$$C_6H_3\begin{cases}ONa\\ONa\\ONa\end{cases} + 3\,(ClCH_2-COONa) = C_6H_3\begin{cases}O-CH_2-CO_2Na\\O-CH_2-CO_2Na\\O-CH_2-CO_2Na\end{cases} + 3\,NaCl.$$

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **19**, 33.

0.2295 g der über $SO_4H_2$ getrockneten Substanz gaben 0.0883 g $H_2O$ und 0.4040 g $CO_2$.

| Versuch: | Berechnet: |
|---|---|
| C = 48.00 Proc. | $C_{12}$ = 48.0 Proc. |
| H = 4.27 „ | $H_{12}$ = 4.0 „ |
| | $O_9$ = 48.0 „ |

Die Pyrogallotriglycolsäure ist in heissem Wasser sehr leicht löslich, weniger in kaltem. Bei 14.5° wird 1 Theil Säure von 75.5 Theilen Wasser gelöst. Aus heisser wässeriger Lösung langsam abgekühlt, krystallisirt sie in langen, weissen, rhombischen Nadeln. Im Capillarröhrchen schmilzt sie bei 198°. Die Pyrogallotriglycolsäure ist dreibasisch. Wird die Säure in wenig überschüssiger Kalilauge gelöst und der Lösung Alkohol zugesetzt, so krystallisirt in schönen weissen Nadeln ein basisches Salz aus, das in Wasser zerfliesslich, dagegen in absolutem Alkohol unlöslich ist. Das aus verdünntem Alkohol, unter Zusatz einiger Tropfen Kalilauge dreimal umkrystallisirte Salz wurde Anfangs über Schwefelsäure, sodann im Luftbade bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet.

0.258 g des Salzes gaben 0.1602 g $SO_4K_2$ = 28.1 Proc. K.

Die Formel $C_{12}H_9O_9K_3$ verlangt 28.33 Proc. K.

Wird das basische Salz in Wasser gelöst und mit Essigsäure versetzt, so fällt krystallinisch ein in kaltem Wasser nur wenig lösliches saures Salz von der Zusammensetzung $C_{12}H_{11}O_9K + H_2O$ aus. Das Krystallwasser entweicht erst bei 110° im Luftbade. Die Analysen des über $SO_4H_2$ getrockneten Salzes lieferten folgende Zahlen:

0.4476 g des Salzes verloren im Luftbade bei 110° 0.0211 g $H_2O$ = 4.71 Proc. Die obige Formel verlangt 5.05 Proc. $H_2O$. 0.2187 g des wasserfreien Salzes mit $SO_4H_2$ geglüht, hinterliessen sodann 0.0566 g $SO_4K_2$ = 11.6 Proc. K. Die Formel $C_{12}H_{11}O_9K$ verlangt 11.5 Proc. K.

Nencki's Laboratorium in Bern.

# Ueber die antiseptische Wirkung der Säuren

von

**Nadina Sieber.**

Journ. prakt. Chem. 19, 433.

Es ist eine längst bekannte und schon von den Chemikern, die sich zuerst mit der Untersuchung der Milch- und Buttersäuregährung beschäftigten, beobachtete Thatsache, dass die saure Reaction der gährenden Lösung eine ungünstige Wirkung auf den Verlauf der Gährung ausübt; weshalb auch, z. B. bei der Bereitung der Gährungsmilchsäure und Buttersäure, in den Vorschriften besonders hervorgehoben wird, dass der Zuckerlösung von vornherein kohlensaurer Kalk oder kohlensaures Zink zugesetzt werden müsse, um die gebildete Säure zu neutralisiren.

Da nach unserer jetzigen Kenntniss die Gährungs- und Fäulnissprocesse durch bestimmte Formen der Spross- resp. Spaltpilze bewirkt werden, so ist die Annahme berechtigt, dass das Vorhandensein freier Säure der Entwickelung und dem Leben dieser Organismen nachtheilig ist. Dass ferner nicht auf alle Pilzformen die Gegenwart freier Säure gleich schädliche Wirkung ausübt, beweist die bekannte Beobachtung, dass die Alkoholgährung auch in schwach saurer Lösung verlaufen kann und die tägliche Erfahrung zeigt, dass saure Fruchtsäfte, Essig u. s. w. beim Stehen an der Luft sich mit Schimmelvegetationen bedecken.

Meines Wissens sind bis jetzt keine Versuche darüber ausgeführt worden, ein wie hoher Säuregehalt einer sonst für das Leben der Fermentorganismen günstigen Nährlösung nachtheilig werden kann; und doch dürfen die hierüber in Zahlen ermittelten Verhältnisse als schätzenswerther Beitrag für die Biologie dieser Organismen betrachtet werden. Auch in anderer Hinsicht waren genauere quantitative Bestimmungen hierüber wünschenswerth. Es ist Thatsache, dass namentlich im Dickdarm des Menschen und der höheren Thiere die Fäulnissorganismen an der Zersetzung des Speisebreies einen nicht gering anzuschlagenden Antheil haben. Im Magen dagegen, unter normalen Verhältnissen, findet durchaus kein Fäulnissprocess statt. Man konnte vermuthen, dass die Ursache hiervon in der sauren Reaction des Magensaftes zu suchen ist. C. Schmidt fand den Gehalt an freier Salzsäure im Magensafte des Hundes = 0.3 Proc. M. Richet[1]) bestimmte bei einem Menschen mit Magenfistel den Gehalt an freier Salzsäure = 1.3 pro Liter und in dem mit Nahrungsmitteln vermischten Magensaft 1.7 pro Liter. Neuerdings erhielt R. Heidenhain[2]) als Mittel aus 36 Bestimmungen für das Secret des Hundes aus dem Fundus des Magens 0.52 Proc. Salzsäure. Die genauere Kenntniss des Säuregrades einer Nährlösung, bei welchem das Leben der Fäulnissorganismen unmöglich ist, dürfte demnach nur Aufklärung verschaffen, ob das Fehlen aller Fäulnissprocesse bei gesunder Magenverdauung bloss durch den Säuregehalt des Magensaftes bedingt wird.

Ich habe nun die obigen Fragen durch Versuche zu beantworten, sowie auch zu entscheiden gesucht, in wie fern die Eigenschaft der Säuren, antiseptisch zu wirken, eine allgemeine ist, oder ob sie nur bestimmten Säuren und von welchem Gehalte zukommt.

Die Säuren, mit welchen ich experimentirte, waren Mineral- und organische Säuren. Der Säuregehalt der Lösungen wurde bei Salz-, Schwefel-, Essig-, Butter- und Milchsäure durch Titriren mit normaler Barytlösung bestimmt. Der Gehalt an Phosphorsäure wurde durch Fällung mit Magnesiamixtur und Wägen des Niederschlages als pyrophosphorsaure Magnesia ermittelt. Die Lösungen von Phenol und Borsäure wurden durch Abwägung bestimmter Quantitäten der betreffenden Substanz und Auflösen in bestimmten Mengen Wassers bereitet. Die Versuche wurden immer mit gleichen Mengen, unter sonst gleichen Verhältnissen und zwar auf folgende Weise ausgeführt. In offenen Kolben von einem halben Liter Inhalt wurden je 300 ccm einer Säurelösung in einem Falle mit 50 g fein zerhacktem Ochsenpankreas, und in einem anderen mit ebensoviel fein zerhacktem Fleische versetzt.

[1]) Journal de l'anatomie et de la physiologie 1879. No. 2.

[2]) Pflüger's Archiv **18**, 169. 1879.

Ich habe deshalb dieses Gewebe gewählt, weil von den sämmtlichen thierischen Geweben das Pankreas die meisten Keime der Mikroorganismen enthält; ausserdem konnte hier die verdauende Wirkung des löslichen pankreatischen Fermentes zur Geltung kommen. Das Fleisch dagegen konnte als fäulnissfähiges, aber nur wenig Mikroorganismen enthaltendes Gewebe, wie es uns in der Nahrung geboten wird, angesehen werden. Die Kolben befanden sich in einem grossen Wasserbade, dessen Temperatur ununterbrochen auf 40 bis 45° unterhalten wurde. Die Dauer eines jeden Versuches war eine Woche, nur einige Lösungen wurden noch längere Zeit digerirt. Die Flüssigkeiten wurden täglich mikroskopisch (bei einer tausendfachen Vergrösserung) untersucht. Wo von beweglichen Bacterien die Rede ist, ist stets die Eigenbewegung unabhängig vom Flüssigkeitsstrome und auch nicht die sogenannte Molekularbewegung gemeint.

Ich gehe nun zur Beschreibung der einzelnen Versuche über.

## Salzsäure und Pankreas.

Es waren fünf Proben mit folgendem Procentgehalt an Säure aufgestellt: 0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc.

Die Probe von 0.1 Proc. zeigt nach 24 Stunden ziemlich lebhaft bewegliche Bacterien und einen intensiv üblen Geruch; nach 48 Stunden sind die Organismen lebhaft beweglich und die Reaction ist neutral.

Die Probe von 0.25 Proc. zeigt nach 24 Stunden einige bewegliche Organismen, und schwachen fauligen Geruch; am 6. Tage sind die Bewegungen lebhafter, aber die Menge der Organismen hat nicht bedeutend zugenommen.

Die Proben von 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc. Gehalt an Säure haben bis zum 8. Tage keine Spuren von Fäulniss gezeigt.

## Salzsäure und Fleisch.

0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc., 3.0 Proc.

Die Probe 0.1 Proc. Gehalt an Säure zeigt nach 24 Stunden nur spärliche Coccen und Stäbchen; nach 48 Stunden sind die Organismen etwas vermehrt; am 3. Tage zeigt die Flüssigkeit schwach üblen Geruch und schwach saure Reaction.

Die Probe 0.25 Proc. zeigt erst am 7. Tage einzelne unbewegliche Organismen; am 9. Tage starke Schimmelvegetationen.

Die Proben 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc., 3.0 Proc. haben bis zu dem 7. Tage keine Spuren von Fäulniss gezeigt.

## Schwefelsäure und Pankreas.

In diesem Falle waren die Versuche mit folgenden Concentrationen aufgestellt: 0.05 Proc., 0.075 Proc., 0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc.

Die Proben 0.05 Proc., 0.075 Proc., 0.1 Proc. zeigen am folgenden Tage starke Fäulniss: sehr lebhaft bewegliche Organismen und intensiv fauligen Geruch, daneben neutrale Reaction.

In der Probe 0.25 Proc. lassen sich am 3. Tage einige unbewegliche Stäbchen und Coccen nachweisen; am 5. Tage das Gleiche wie vorher, nur Schimmelvegetationen sind eingetreten, welche bis zum 8. Tage zunehmen.

Die Probe 0.5 Proc. hat bis zum 12. Tage keine Veränderungen gezeigt; erst dann sind Schimmelvegetationen eingetreten.

Die Proben 1.0 Proc. und 2.0 Proc. haben bis zum 12. Tage keine Fäulniss gezeigt.

### Schwefelsäure und Fleisch.

0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc.

In der Probe 0.1 Proc. lassen sich nach 24 Stunden unbewegliche Stäbchen und Coccen nachweisen; am 4. Tage sind noch Bacillen eingetreten und der Geruch ist schwach faulig; am 5. Tage einige bewegliche Stäbchen; am 6. Tage sind noch Schimmelvegetationen dazu gekommen; am 8. Tage stark ausgesprochene Fäulniss.

In der Probe 0.25 Proc. fand man am 3. Tage nur nach langem Suchen einige Bacillen und Stäbchen; am 4. Tage waren sehr reichliche Schimmelvegetationen eingetreten, die anhaltend zunahmen und am 10. Tage einen dem alten Käse ähnlichen Geruch verursachten; am 8. Tage wurden die vorhandenen Bacterien beweglich.

In der Probe 0.5 Proc. können erst am 8. Tage Schimmelvegetationen nachgewiesen werden, aber keine Bacterien; am 10. Tage bilden einige Bacterien und Schimmelvegetationen eine Haut auf der Oberfläche; übler Geruch.

In den Proben 1.0 Proc. und 2.0 Proc. trat keine Fäulniss ein.

### Phosphorsäure und Pankreas.

0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc.

Die Probe von 0.1 Proc. zeigt schon nach 24 Stunden Mikroorganismen; am 2. Tage ist starker fauliger Geruch vorhanden und die Organismen haben sich vermehrt; am meisten sind Stäbchen vorhanden, dann einige Bacillen, Coccen und Streptococcen. Die Reaction ist neutral.

Die Probe 0.25 Proc. zeigt am 2. Tage im Ganzen nicht viel Organismen, unter denen einige bewegliche Stäbchen, Coccen und Bacillen; am 5. Tage haben sich die Bacillen etwas vermehrt. Das Gleiche bleibt bis zum 7. Tage.

Die Probe 0.5 Proc. hat am 2. Tage einen Geruch nach ranzigem Fett. Von Organismen sieht man nur einige Coccen und Stäbchen; am 4. Tage haben sich Schimmelvegetationen auf der Oberfläche der Flüssigkeit entwickelt; am 7. Tage mehr Schimmelpilze und der Geruch ist fauliger.

Die Probe 1.0 Proc. zeigt am 2. Tage einige Streptococcen und Coccen, dazu ranzigen Geruch. Am 5. Tage sind Schimmelvegetationen eingetreten, die sich mit jedem Tage vermehren.

### Phosphorsäure und Fleisch.

0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc.

Die Probe 0.1 Proc. zeigt am 2. Tage Bacterien, Coccen und Streptococcen; am 4. Tage haben sich die Organismen vermehrt, einige unter ihnen sind beweglich,

Ich habe deshalb dieses Gewebe gewählt, weil von den sämmtlichen thierischen Geweben das Pankreas die meisten Keime der Mikroorganismen enthält; ausserdem konnte hier die verdauende Wirkung des löslichen pankreatischen Fermentes zur Geltung kommen. Das Fleisch dagegen konnte als fäulnissfähiges, aber nur wenig Mikroorganismen enthaltendes Gewebe, wie es uns in der Nahrung geboten wird, angesehen werden. Die Kolben befanden sich in einem grossen Wasserbade, dessen Temperatur ununterbrochen auf 40 bis 45° unterhalten wurde. Die Dauer eines jeden Versuches war eine Woche, nur einige Lösungen wurden noch längere Zeit digerirt. Die Flüssigkeiten wurden täglich mikroskopisch (bei einer tausendfachen Vergrösserung) untersucht. Wo von beweglichen Bacterien die Rede ist, ist stets die Eigenbewegung unabhängig vom Flüssigkeitsstrome und auch nicht die sogenannte Molekularbewegung gemeint.

Ich gehe nun zur Beschreibung der einzelnen Versuche über.

### Salzsäure und Pankreas.

Es waren fünf Proben mit folgendem Procentgehalt an Säure aufgestellt: 0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc.

Die Probe von 0.1 Proc. zeigt nach 24 Stunden ziemlich lebhaft bewegliche Bacterien und einen intensiv üblen Geruch; nach 48 Stunden sind die Organismen lebhaft beweglich und die Reaction ist neutral.

Die Probe von 0.25 Proc. zeigt nach 24 Stunden einige bewegliche Organismen, und schwachen fauligen Geruch; am 6. Tage sind die Bewegungen lebhafter, aber die Menge der Organismen hat nicht bedeutend zugenommen.

Die Proben von 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc. Gehalt an Säure haben bis zum 8. Tage keine Spuren von Fäulniss gezeigt.

### Salzsäure und Fleisch.

0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc., 3.0 Proc.

Die Probe 0.1 Proc. Gehalt an Säure zeigt nach 24 Stunden nur spärliche Coccen und Stäbchen; nach 48 Stunden sind die Organismen etwas vermehrt; am 3. Tage zeigt die Flüssigkeit schwach üblen Geruch und schwach saure Reaction.

Die Probe 0.25 Proc. zeigt erst am 7. Tage einzelne unbewegliche Organismen; am 9. Tage starke Schimmelvegetationen.

Die Proben 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc., 3.0 Proc. haben bis zu dem 7. Tage keine Spuren von Fäulniss gezeigt.

### Schwefelsäure und Pankreas.

In diesem Falle waren die Versuche mit folgenden Concentrationen aufgestellt: 0.05 Proc., 0.075 Proc., 0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc.

Die Proben 0.05 Proc., 0.075 Proc., 0.1 Proc. zeigen am folgenden Tage starke Fäulniss: sehr lebhaft bewegliche Organismen und intensiv fauligen Geruch, daneben neutrale Reaction.

n der Probe 0.25 Proc. lassen sich am 3. Tage einige unbewegliche Stäbchen
occen nachweisen; am 5. Tage das Gleiche wie vorher, nur Schimmelvegetationen
ingetreten, welche bis zum 8. Tage zunehmen.
)ie Probe 0.5 Proc. hat bis zum 12. Tage keine Veränderungen gezeigt; erst
sind Schimmelvegetationen eingetreten.
)ie Proben 1.0 Proc. und 2.0 Proc. haben bis zum 12. Tage keine Fäulniss
t.

Schwefelsäure und Fleisch.

0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc.

n der Probe 0.1 Proc. lassen sich nach 24 Stunden unbewegliche Stäbchen
occen nachweisen; am 4. Tage sind noch Bacillen eingetreten und der Geruch
wach faulig; am 5. Tage einige bewegliche Stäbchen; am 6. Tage sind noch
melvegetationen dazu gekommen; am 8. Tage stark ausgesprochene Fäulniss.
n der Probe 0.25 Proc. fand man am 3. Tage nur nach langem Suchen
Bacillen und Stäbchen; am 4. Tage waren sehr reichliche Schimmelvegetationen
reten, die anhaltend zunahmen und am 10. Tage einen dem alten Käse ähn-
Geruch verursachten; am 8. Tage wurden die vorhandenen Bacterien beweglich.
n der Probe 0.5 Proc. können erst am 8. Tage Schimmelvegetationen nach-
sen werden, aber keine Bacterien; am 10. Tage bilden einige Bacterien und
melvegetationen eine Haut auf der Oberfläche; übler Geruch.
n den Proben 1.0 Proc. und 2.0 Proc. trat keine Fäulniss ein.

Phosphorsäure und Pankreas.

0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc.

)ie Probe von 0.1 Proc. zeigt schon nach 24 Stunden Mikroorganismen;
Tage ist starker fauliger Geruch vorhanden und die Organismen haben sich
hrt; am meisten sind Stäbchen vorhanden, dann einige Bacillen, Coccen und
ococcen. Die Reaction ist neutral.
)ie Probe 0.25 Proc. zeigt am 2. Tage im Ganzen nicht viel Organismen,
denen einige bewegliche Stäbchen, Coccen und Bacillen; am 5. Tage haben
ie Bacillen etwas vermehrt. Das Gleiche bleibt bis zum 7. Tage.
)ie Probe 0.5 Proc. hat am 2. Tage einen Geruch nach ranzigem Fett. Von
ismen sieht man nur einige Coccen und Stäbchen; am 4. Tage haben sich
melvegetationen auf der Oberfläche der Flüssigkeit entwickelt; am 7. Tage
Schimmelpilze und der Geruch ist fauliger.
)ie Probe 1.0 Proc. zeigt am 2. Tage einige Streptococcen und Coccen, dazu
en Geruch. Am 5. Tage sind Schimmelvegetationen eingetreten, die sich mit
Tage vermehren.

Phosphorsäure und Fleisch.

0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc.

)ie Probe 0.1 Proc. zeigt am 2. Tage Bacterien, Coccen und Streptococcen;
Tage haben sich die Organismen vermehrt, einige unter ihnen sind beweglich,

aber die meisten sind in Zooglöamassen gruppirt; am 6. Tage sind die Bewegungen lebhafter; am 7. Tage sind zu den vorhandenen noch Schimmelvegetationen und fauliger Geruch hinzugetreten; neutrale Reaction.

Die Probe 0.25 Proc. zeigt am 2. Tage einzelne Bacterien und Streptococcen; am 6. Tage sind Schimmelvegetationen entwickelt; am 9. Tage gleicher Befund.

Die Probe 0.5 Proc. zeigt am 4. Tage Schimmelvegetationen; am 12. haben sie sich vermehrt, von Spaltpilzen ist nichts zu sehen; fauliger Geruch.

Die Proben 1.0 Proc. und 2.0 Proc. sind bis zum 12. Tage unverändert geblieben.

Essigsäure und Pankreas.

0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc., 4.0 Proc.

Die Probe 0.1 Proc. zeigt schon nach 24 Stunden stark ausgesprochene Fäulniss; die vorhandenen Mikroorganismen, Mikrobacterien und Bacillen sind lebhaft beweglich; daneben stark fauliger Geruch und neutrale Reaction.

Die Probe 0.25 Proc. zeigt nach 24 Stunden bewegliche Stäbchen und Bacillen; am 2. Tage den Geruch und die lebhaften Bewegungen der Organismen wie in ausgesprochener Fäulniss. Ebenfalls neutrale Reaction.

Die Probe 0.5 Proc. zeigt nach 24 Stunden nur wenige Bacillen und bewegliche Stäbchen; am 2. Tage sind die Bewegungen lebhafter; am 3. Tage ausgesprochene Fäulniss.

Die Probe 1.0 Proc. zeigt nach 24 Stunden nur wenige unbewegliche Organismen; am 6. Tage sieht man bewegliche Stäbchen und Bacillen; am 12. Tage findet man nur abgestorbene Organismen.

Die Proben 2.0 Proc. und 4.0 Proc. sind bis zum 12. Tage unverändert geblieben.

Essigsäure und Fleisch.

0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc.

Die Probe 0.1 Proc. zeigt nach 24 Stunden einzelne unbewegliche Mikroorganismen: Stäbchen und Bacillen; am 4. Tage sind die vorhandenen Organismen beweglich geworden, an Zahl haben sie aber nicht zugenommen; am 10. Tage haben sich Schimmelvegetationen entwickelt.

Die Probe 0.25 Proc. verhält sich ganz gleich wie die vorige, nur mit dem Unterschiede, dass bis zum 12. Tage keine Schimmelvegetationen eingetreten sind.

Die Probe 0.5 Proc. zeigt nur am 5. Tage einige Mikroorganismen, die am 6. beweglich geworden sind, aber am 10. Tage die Bewegungen wieder verloren haben.

Die Proben 1.0 Proc. und 2.0 Proc. sind bis zum 12. Tage unverändert geblieben.

Buttersäure und Pankreas.

Concentrationen von 0.1 Proc. bis 2.0 Proc.

Die Probe 0.1 Proc. zeigt nach 24 Stunden ausgesprochene Fäulniss; die Reaction ist neutral, übler Geruch der Lösung.

Die Probe 0.25 Proc. verhält sich nach 24 Stunden gleich wie die vorige.

Die Probe 0.5 Proc. zeigt nach 24 Stunden bewegliche Stäbchen und ein- Bacillen. Geruch nach Buttersäure ist noch nicht verschwunden; am 2. Tage die Organismen vermehrt und lebhaft beweglich.

Die Probe 1.0 Proc. zeigt nach 24 Stunden die Mikroorganismen in ge- nder Zahl, von denen einzelne erst am 2. Tage beweglich geworden sind, am ıge haben sie sich vermehrt und sind lebhaft beweglich geworden. Geruch Buttersäure ist noch vorhanden.

Die Probe 2.0 Proc. zeigt keine Veränderung bis zum 12. Tage.

Buttersäure und Fleisch.

0.1 Proc. bis 2.0 Proc.

Die Probe 0.1 Proc. zeigt nach 24 Stunden ausgesprochene Fäulniss und ·ale Reaction.

Die Probe 0.25 Proc. zeigt nach 24 Stunden viele in Haufen zusammen- lnete Mikroorganismen. Geruch nach Buttersäure ist noch vorhanden; am ıge ausgesprochene Fäulniss.

Die Probe 0.5 Proc. zeigt am 4. Tage spärliche Bacillen; am 6. Tage sind mmelpilze in Form von baumartigen Verzweigungen eingetreten und die Bacillen in der Entwickelung stehen geblieben.

Die Probe 1.0 Proc. zeigt am 4. Tage die gleichen baumartigen Verzweigungen in der vorigen Probe. Von Bacterien sieht man nichts. Der gleiche Zustand ıt bis zum 10. Tage.

Die Probe 2.0 Proc. zeigt keine Veränderungen bis zum 12. Tage.

Gährungsmilchsäure und Pankreas.

0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc., 4.0 Proc.

Die Proben 0.1 und 0.25 Proc. zeigen schon am folgenden Tage sehr aus- rochene Fäulniss mit neutraler Reaction.

Die Probe 0.5 Proc. zeigt am 2. Tage nur unbewegliche Organismen; am ıge sind dieselben beweglich und vermehrt; auch sind Schimmelvegetationen ꞅtreten. Die ersten, sowie die letzten sind am 7. Tage bedeutend vermehrt.

Die Probe 1.0 Proc. zeigt am 2. Tage keine Bacterien, nur Schimmelvege- ıen; am 4. Tage sehr spärliche Bacterien; am 7. Tage sind die letzten etwas ehrt, aber die Schimmelvegetationen vorwiegend vorhanden.

Die Probe 2.0 Proc. zeigt erst am 4. Tage einzelne Bacterien; am 7. Tage neben beweglichen Bacterien Schimmelvegetationen vorhanden.

In der Probe 4.0 Proc. lassen sich am 7. Tage einige bewegliche Bacterien wenig Schimmel nachweisen. Das Gleiche bis zum 10. Tage.

Milchsäure und Fleisch.

0.1 Proc. bis 3.0 Proc.

Die Probe 0.1 Proc. zeigt am 2. Tage ausgesprochene Fäulniss.

Die Probe 0.25 Proc. zeigt am 2. Tage unbewegliche Stäbchen, daneben mmelvegetationen. Intensiver übler Geruch.

In der Probe 0.5 Proc. lassen sich am 3. Tage Schimmelvegetationen und unbewegliche Stäbchen nachweisen; am 7. Tage sind die Schimmelvegetationen vermehrt und bilden eine dicke Haut auf der Oberfläche der Flüssigkeit.

In den Proben 1.0 Proc., 2.0 Proc. lassen sich am 7. Tage Schimmelvegetationen nachweisen und einige unbewegliche Bacterien.

Die Probe 3.0 Proc. ist bis zum 7. Tage ohne Veränderung geblieben.

Endlich wurde noch Phenol und Borsäure in den Kreis dieser Untersuchungen gezogen.

Phenol und Pankreas.

0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc.

Die Probe 0.1 Proc. zeigt nach 24 Stunden ausgesprochene Fäulniss; von Mikroorganismen sind Stäbchen, Streptococcen und Bacillen vorhanden. Fauliger Geruch.

Die Probe 0.25 Proc. verhält sich ganz gleich wie die vorige.

Die Probe 0.5 Proc. zeigt am 2. Tage bewegliche Mikroorganismen: Stäbchen und Bacillen. Der charakteristische Phenolgeruch ist noch vorhanden.

In den Proben 1.0 Proc., 2.0 Proc. keine Fäulniss und sind auch keine Mikroorganismen zu finden.

Phenol und Fleisch.

0.1 bis 2.0 Proc.

Die Probe 0.1 Proc. zeigt nach 24 Stunden Streptococcen, Bacillen und bewegliche kurze Stäbchen; am 2. Tage ausgesprochene Fäulniss.

Die Probe 0.25 Proc. zeigt nach 24 Stunden nur unbewegliche kurze Stäbchen Bacillen und Streptococcen; am 3. Tage sind die Stäbchen beweglich geworden am 4. Tage ausgesprochene Fäulniss.

Die Probe 0.5 Proc. zeigt am 3. Tage einige schwach bewegliche Stäbchen dann Schimmelvegetationen; am 4. Tage ist die Zahl der Mikroorganismen vermehrt, aber bis zum 12. Tage bleibt der Zustand unverändert.

Die Proben 1.0 Proc., 2.0 Proc. zeigen nichts von Mikroorganismen und keinen Fäulnissgeruch.

Borsäure und Pankreas.

0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc., 4.0 Proc.

Die Proben 0.1 Proc., 0.25 Proc. zeigen nach 24 Stunden stark fauligen Geruch, der nach 48 Stunden noch intensiver wird. Die Organismen sind sehr lebhaft beweglich und in grosser Anzahl vorhanden.

Die Probe 0.5 Proc. zeigt am nächsten Tage bewegliche Stäbchen, Coccen und einzelne Bacillen; am 3. Tage sind die Organismen in noch grösserer Menge vorhanden. Sehr ausgesprochener fauliger Geruch.

Die Probe 1.0 Proc. zeigt am nächsten Tage einige unbewegliche Mikrobacterien und Coccen; am 3. Tage sind die Organismen vermehrt und lebhaft beweglich.

Die Probe 2.0 Proc. zeigt am 3. Tage unbewegliche Organismen, die bis zum 7. Tage sich vermehrt haben und beweglich geworden sind.

Die Probe 4.0 Proc. zeigt am 7. Tage bewegliche Organismen.

### Borsäure und Fleisch.

0.1 Proc., 0.25 Proc., 0.5 Proc., 1.0 Proc., 2.0 Proc.

Die Probe 0.1 Proc. zeigt am folgenden Tage bewegliche Bacterien, Coccen Streptococcen und Bacillen; am 3. Tage ausgesprochene Fäulniss. Mikroorganismen massenhaft vorhanden und sehr lebhaft beweglich. Starker übler Geruch.

Die Proben 0.25 Proc. und 0.5 Proc. zeigen am folgenden Tage unbewegliche Organismen; am 3. Tage ausgesprochene Fäulniss.

Die Probe 1.0 Proc. zeigt nach 24 Stunden unbewegliche Organismen; am 3. Tage einzelne bewegliche Stäbchen und Coccen, daneben übler Geruch.

Die Probe 2.0 Proc. zeigt am 3. Tage einzelne bewegliche Mikrobacterien, am 4. Tage ist die Oberfläche der Flüssigkeit mit Schimmelvegetationen bedeckt.

Die Resultate dieser Versuche sind in mancher Hinsicht bemerkenswerth. Es ergiebt sich zunächst, dass schon ein relativ sehr niedriger Säuregehalt — 0.5 Proc. — die Fäulniss vollkommen zu verhindern im Stande ist. So verhalten sich die Mineralsäuren und von den organischen Säuren die Essig-, schon weniger die Buttersäure. Die Milchsäure steht in ihrer antiseptischen Wirkung bedeutend hinter den obigen Säuren zurück, ebenso die Borsäure. Die letztere aber röthet Lackmus nicht. Wie der Versuch mit 4 Proc. Borsäure mit Pankreas zeigt, wurde auch dadurch die Fäulniss nicht gänzlich verhindert. Das Phenol, obgleich in seiner fäulnisshemmenden Wirkung ein wenig schwächer als die Mineralsäuren, zeigt doch bei einem Gehalte von 0.5 Proc. ausgesprochen antiseptische Eigenschaften. Ausnahmslos stellt sich die Fäulniss früher ein in denjenigen Säurelösungen, wo Pankreas, als in denen, wo Fleisch zugesetzt wurde.

Interessant ist der Unterschied in dem Verhalten der Spalt- und Schimmelpilze gegenüber den Säuren. In 0.5 Proc. Schwefelsäure, 1.0 Proc. Phosphorsäure, 2.0 Proc., ja sogar 4.0 Proc. Milchsäure, in denen keine Bacterien zu sehen waren, stellten sich Schimmelvegetationen ein.

Ist nun der Säuregehalt des Magensaftes hinreichend genug, um dadurch allein das Ausbleiben aller Fäulnissprocesse bei gesunder Magenverdauung zu erklären? Wenn wir uns an die letzten Bestimmungen Heidenhain's für den Fundus des Magens mit 0.52 Proc. freie HCl halten wollten, so wäre die Frage unbedingt mit „Ja" zu beantworten. Aus meinen Versuchen mit Fleisch und Pankreas ergiebt sich, dass diese Gewebe in 0.25 Proc. Salzsäure tagelang der Fäulniss widerstehen können. Im Mittel aus den Bestimmungen C. Schmidt's, Rabuteau's und Richet's würde der Gehalt an freier Salzsäure im Magensafte ebenfalls 0.25 Proc. betragen. Ich glaube jedoch hervorheben zu müssen, dass namentlich bei Menschen, wo der Säuregehalt geringer als bei Hunden ist, für das Ausbleiben der Fäulniss bei normaler Magenverdauung auch noch andere Momente von Einfluss sind; so namentlich der Umstand, dass die Säure des Magensaftes immer wieder neu nachgebildet

wird, wodurch nicht allein die Alkalinität des Speisebreies neutralisirt wird, sondern derselbe auch stets sauer bleibt. In meinen Versuchen, wo in 0.1 Proc. und auch in 0.25 Proc. Säurelösung Fäulniss eingetreten ist, fand ich die Reaction nicht mehr sauer, sondern neutral.

Fäulnisswidrig wirkt ferner die peristaltische Bewegung, wodurch eben der Speisebrei in allen seinen Theilen mit der Magenschleimhaut in Berührung kommt und mit Säure benetzt wird. Schliesslich muss die Entfernung des Mageninhaltes, sei es durch Resorption oder Entleerung in den Dünndarm, auch als eine von den mitwirkenden Ursachen für das Ausbleiben der Fäulniss im Magen angesehen werden.

Alle diese Thatsachen zusammengehalten geben uns genügende Erklärung, weshalb bei gesunder Verdauung im Magen keine Fäulniss stattfindet. — Andererseits ist es allgemein bekannt, dass der Magen bei theilweiser oder gänzlich unterdrückter Secretion des Saftes, sowie aus verschiedenen anderen pathologischen Gründen zum Sitz sogar intensiver Fäulnissprocesse werden kann.

Die mit verdünnten Salzsäurelösungen erhaltenen Resultate berechtigen zu der Annahme, dass auch die Lösungen saurer Salze schon in verdünnter Lösung antiseptisch wirken werden[1]). Auch lässt sich hoffen, dass die fäulnisswidrige Eigenschaft der Säuren, genauer gekannt, in praktischer Hinsicht und namentlich für die Chirurgie von Nutzen sein wird.

Nencki's Laboratorium in Bern.

---

# Ueber die antiseptischen Eigenschaften der Pyrogallussäure

von

Dr. V. Bovet[2]).

Journ. prakt. Chem. **19**. 445.

Bei Besprechung der Fäulniss in geschlossenen Gefässen erklärt Pasteur[3]) die Erscheinungen, welche durch organisirte Fermente hervorgebracht werden, folgendermaassen: Unter den günstigsten Verhältnissen vergehen mindestens 24 Stunden, bis die Erscheinung durch äussere Zeichen angedeutet wird. Während dieser Periode vollzieht sich innerlich eine Bewegung, deren Zweck es ist, allen in der Flüssigkeit gelösten Sauerstoff zu verzehren und durch Kohlensäure zu ersetzen. Das gänzliche Verschwinden des Sauerstoffs, sobald die Flüssigkeit neutral oder leicht alkalisch ist, wird der Entwickelung der kleinsten Infusorien zugeschrieben.

[1]) Nach einer Publication von Dr. G. Glaser in Bern (Beitrag zur Kenntniss der antiseptischen Substanzen im Correspondenzblatt für schweizerische Aerzte, 1878) hat die essigsaure Thonerde ganz die gleichen antiseptischen Eigenschaften und in gleicher Verdünnung wie die Essigsäure.

[2]) Vom Verf. zur Veröffentlichung mitgetheilt aus dem „Lyon médical, Janvier 1879".

[3]) Pasteur, Compt. rend. **56**, 1189.

namentlich dem Monas crepusculum und dem Bacterium Termo. Sobald der Sauerstoff aufgezehrt ist, sterben sie und fallen als Niederschlag zu Boden. Sehr häufig, wenn der in der Flüssigkeit gelöste Sauerstoff verzehrt ist, fangen die Vibrionenfermente, welche des Sauerstoffs zu ihrem Leben nicht bedürfen, sich zu zeigen an und die Fäulniss wird deutlich.

Ferner erwähnt Pasteur, indem er von der Fäulniss in offenen Gefässen spricht, dass auf der Oberfläche der Flüssigkeit zuerst eine Schicht entsteht, aus Bacterien gebildet, welche ebenfalls den Zweck haben, den Sauerstoff der Luft zu verzehren, und zu verhindern, dass derselbe in die unteren Schichten der Flüssigkeit eindringe. Die faulende Flüssigkeit wird also der Sitz zweier, deutlich von einander verschiedener Vorgänge, welche in directer Beziehung zu der physiologischen Thätigkeit der zwei Arten darin sich ernährender organisirter Wesen stehen. Einestheils bewirken die Vibrionen, welche ohne die Mitwirkung von Sauerstoff leben, im Innern der Flüssigkeit Fermentationsvorgänge, d. h. sie zerlegen die stickstoffhaltige Substanz in einfachere, aber noch complexe Producte. Andererseits verbrennen die Bacterien (oder Mucedineen) diese Producte und führen sie in die einfachsten Verbindungen: Wasser, Ammoniak und Kohlensäure, über. Die Untersuchungen von Nencki[1]) und Kauffmann haben bewiesen, dass in der That (und ich habe mich selbst oft genug davon überzeugen können) in den ersten Perioden der Zersetzung durch Fäulniss bei Luftzutritt ein deutlicher Unterschied zwischen den obersten Schichten der Flüssigkeit besteht, wo die Mikrobacterien und Bacillen sich befinden, und den tieferen Schichten, wo hauptsächlich die Coccen als Diplococcen und Ketten sich vorfinden. Später (nach 8 bis 10 Tagen bei 40° und viel später bei gewöhnlicher Temperatur) bricht die Kruste, welche sich auf der Oberfläche der Flüssigkeit gebildet hat, und fällt zu Boden, so dass in den späteren Stadien der Fäulniss man in allen Schichten Coccen und Bacillen vorfindet.

Es ist sicher, dass der Anfang der Fäulniss sich durch das Verschwinden des in der Flüssigkeit enthaltenen Sauerstoffs anzeigt.

Man kann sich leicht von den reducirenden Eigenschaften der organisirten Fermente überzeugen, wie es auch Hoppe-Seyler[2]) gezeigt hat, indem man Blut faulen lässt; das Oxyhämoglobin verwandelt sich sofort in Hämoglobin. Die Arbeiten von Jeanneret[3]) haben gezeigt, dass die Bacterien Anaërobien sind, d. h. sie bewirken die Zersetzung der albuminoiden Stoffe in Flüssigkeiten bei vollkommenem Luftabschluss; bei Luftzutritt geht der Process allerdings bedeutend rascher vor sich.

Um die Oxydationserscheinungen bei Ausschluss des atmosphärischen Sauerstoffs zu erklären, nimmt Nencki an, gestützt auf seine Erfahrungen (Zersetzung des Albumins durch schmelzendes Kali), dass die Fermente in der faulenden Flüssigkeit

[1]) Nencki, Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses. Bern 1876. — Dieser Band S. 181.

[2]) Hoppe-Seyler, Weitere Mittheilungen über die Eigenschaften des Blutfarbstoffes. Zeitschr. f. physiol. Chem. Strassburg.

[3]) Jeanneret, Untersuchungen über die Zersetzung von Gelatine und Eiweiss durch die geformten Fermente bei Luftabschluss. Bern 1877. — Dieser Band S. 246.

in diesem Falle das Wasser in Wasserstoff und Hydroxyl zersetzen, wodurch der nascirende Wasserstoff die Reductionen, das Hydroxyl aber die Oxydationen bewirkt. Nencki bezeichnet diejenigen Formen der Bacterien, welche ohne Sauerstoff leben können, nicht gemäss ihres negativen Merkmales, als Anaërobien, sondern als Hydrobien. Folgende Gleichung veranschaulicht diese Zersetzung des Wassers: $H_2O = H + OH$, oder wenn man diese Zersetzung an zwei Molekülen Wasser sich vollziehen lässt, $2(H_2O) = H_2 + H_2O_2$. Das so entstandene Wasserstoffsuperoxyd würde dann in $H_2O$ und O zerfallen. Die organisirten Fermente brauchen also zu den Oxydationen den Sauerstoff, den sie theils der Luft, theils dem Wasser, indem sie es zersetzen, entziehen.

Wäre es daher nicht geboten, solchen Substanzen, welche dieses Gas absorbiren, die antiseptischen Eigenschaften zuzuschreiben, welche man bisher den oxydirenden Körpern zugeschrieben hat; mit anderen Worten: sollte man nicht annehmen, dass die den Sauerstoff begierig absorbirenden Substanzen die Vibrionen so zu sagen durch Asphyxie tödten, indem sie ihnen die Mittel entziehen, organische Substanzen zu oxydiren?

Diese Frage veranlasste mich zu der nachfolgenden Untersuchung. Das Pyrogallol gehört zu den sehr leicht verbrennbaren, Sauerstoff anziehenden Substanzen. Die Oxydation des Pyrogallols vollzieht sich in alkalischer Lösung viel zu rasch, um erwarten zu können, dass es in einer faulenden Flüssigkeit für längere Zeit seine sauerstoffanziehenden Eigenschaften bewahren werde. Nicht so aber in rein wässeriger Lösung. Ich habe daher zu meinen Versuchen nur Lösungen von Pyrogallol in reinem Wasser benutzt.

Jüdell[1]), Personne[2]), Baumann und Herter[3]) haben seine physiologischen Eigenschaften geprüft. Vom Darme aus resorbirt, können 2 bis 4 g einen Hund tödten, 0.1 g einen Frosch.

Personne, welcher das Pyrogallol mit Phosphor vergleicht, schreibt die giftigen Wirkungen dieser Substanz dem Umstande zu, dass sie Sauerstoff dem Blute entzieht, während die anderen Beobachter, auf Grund der von ihnen an Hunden und Fröschen gemachten Erfahrungen, die tödtliche Wirkung der Bildung von Thrombose zuschreiben.

Das dem Organismus zugeführte Pyrogallol erscheint als solches zum Theil unverändert, zum anderen Theil als ätherschwefelsaures Salz im Harne wieder[4]); ebenso kann man sein Vorkommen im Blut und in der Galle nachweisen. So viel ich weiss, sind bis heute Untersuchungen über die antiseptischen Eigenschaften dieser Substanz nicht gemacht worden[5]).

---

[1]) Med.-chem. Untersuchungen, Tübingen 1868, Heft 3.

[2]) Personne, Compt. rend. **69**, 749.

[3]) Baumann u. Herter, Ueber die Synthese von ätherschwefelsauren und das Verhalten aromatischer Substanzen im Thierkörper. Zeitschr. f. physiol. Chem. Strassburg 1877.

[4]) Claude-Bernard, Leçons sur les propriétés physiologiques des liquides de l'organisme **2**, 144, 1859.

[5]) Vergl. Note von Kolbe und v. Meyer auf einer der folgenden Seiten.

Das Pankreas enthält grosse Mengen von Vibrionenkeimen, wovon ich mich selbst überzeugt habe, indem ich Theile dieser Drüse (einem 5 Minuten vorher geschlachteten Ochsen entnommen) unter das Mikroskop brachte. Unter allen thierischen Substanzen ist sicherlich das Pankreas diejenige, welche am schnellsten in Fäulniss übergeht, da sich auch in ihr eine grosse Menge von Bacterien der verschiedensten Formen entwickelt. Ich habe also das Ochsenpankreas zu meinen Versuchen entweder bei gewöhnlicher Temperatur oder bei 35 bis 40° benutzt, welche Temperatur dem Leben der organisirten Fermente sehr günstig ist.

Meine Versuche sind folgende:

## I. Versuche mit frischem Pankreas.

Verhindert das Pyrogallol die Entwickelung der Vibrionenkeime und bei welcher Concentration?

Versuch Nr. 1. Frisches Ochsenpankreas wird mit 3 Proc. Pyrogalluslösung vermischt. Bei gewöhnlicher Temperatur zeigt sich nach 4 Tagen oder später weder Geruch noch Gasentwickelung; unter dem Mikroskop entdeckt man keine Bacterien.

Versuch Nr. 2. Pankreas in 2 proc. Pyrogallussäurelösung zeigt bei gewöhnlicher Temperatur, einige Tage später untersucht, weder Gasentwickelung noch Geruch, unter dem Mikroskop keine lebenden Bacterien. Diese Lösung wurde aufbewahrt und von Zeit zu Zeit untersucht; niemals zeigte sie Geruch oder konnte man unter dem Mikroskop Vibrionen entdecken. Seitdem ist mehr wie ein Jahr vergangen, die Lösung ist immer im gleichen Zustande, nur ist die Farbe etwas dunkler geworden.

Versuch Nr. 3. 24 Stunden vor dem Versuche dem Thiere entnommenes Pankreas wird in die beiden folgenden Lösungen gethan und bei 40° auf dem Wasserbade erhalten.

| 2 proc. Pyrogalluslösung. | 1 proc. Pyrogalluslösung. |
|---|---|
| 2 Tage später: Unter dem Mikroskop keine Bacterien, kein Geruch. | Einige wenige Bacterien, die man nur bei sorgfältigem Suchen entdeckt. |
| 3 Tage später: Dasselbe. | Dasselbe. |
| 5 Tage später: Keine lebenden Bacterien. Kein Geruch, die Flüssigkeit ist klar und zeigt keine Gasentwickelung. | Kein Geruch, unter dem Mikroskop einige Coccen. |
| 6 Tage später: Dasselbe. | Dasselbe. |
| 20 Tage später. Kein Geruch, die Flüssigkeit ist klar, obgleich ein wenig dunkler; unter dem Mikroskop absolut keine Bacterien, weder lebende, noch todte. | Kein Geruch, die Flüssigkeit ist klar und ohne Gasentwickelung, unter dem Miskroskop kein Bacillus, aber hin und wieder ein einzelner Coccus. |

Versuch Nr. 4. Drei offene Gefässe werden ins Wasserbad gestellt. Im ersten ist destillirtes Wasser, im zweiten eine $2^1/_2$ proc. Phenollösung, im dritten eine $2^1/_2$ proc. Pyrogalluslösung. Den drei Lösungen fügt man eine bestimmte Menge frisches Ochsenpankreas zu. Am folgenden Tage enthält das erste Gefäss Bacterien, drei Tage später enthält es deren eine grosse Menge; in der Flüssigkeit der beiden anderen Gefässe sind keine zu entdecken.

Versuch Nr. 5. Man bringt Pankreas, welches einem vor 5 Minuten geschlachteten Ochsen entnommen ist, in eine $^1/_2$ proc. Pyrogalluslösung. Des Vergleiches halber bringt man davon auch in destillirtes Wasser und enthält die beiden Flüssigkeiten bei 35°. 2 Tage später sind in der ersten Flüssigkeit nur ganz wenige Coccen zu sehen und wenige lebende Bacillen, während das zweite eine grosse Anzahl Vibrionen enthält und viel stärkeren Geruch verbreitet.

Versuch Nr. 6. Frisches Ochsenpankreas wird in den folgenden Lösungen ins Wasserbad gestellt:

| $^1/_2$ proc. Pyrogalluslösung. | Destillirtes Wasser. |
|---|---|
| 2. Tag: Fast keine Vibrionen. | Einige Bacterien. |
| 3. Tag: Einige Coccen und einige lebende Bacillen. | Lebende Bacterien der verschiedensten Formen und in grösserer Anzahl. |
| 4. Tag: Die Vibrionen sind viel weniger zahlreich als in der anderen Flüssigkeit. | Viele Bacterien, die Bacillen sind sehr lebhaft. |

II. Versuche mit schon riechendem, mehrere Tage altem Pankreas.

Versuch Nr. 7. 2 Tage altes und schon riechendes Pankreas wird in offenen Gefässen ins Wasserbad bei 35° gesetzt in den folgenden Flüssigkeiten:

| $^1/_2$ proc. Pyrogalluslösung. | Destillirtes Wasser. |
|---|---|
| 2. Tag: Lebende Bacterien. | Lebende Bacterien. |
| 3. Tag: Ebenso; die Mikroorganismen scheinen weniger zahlreich zu sein, als in der anderen Flüssigkeit. | Bacterien verschiedenster Formen in grösserer Zahl als am Tage vorher, alle sind lebend. |
| 4. Tag: Ebenso wie am Tage vorher. | Bacterien in grosser Zahl. |
| 5. Tag: Die Bacterien sind weniger zahlreich, die Bacillen erscheinen weniger lebhaft, als in der anderen Flüssigkeit. | Viele Bacterien, die Bacillen sind sehr lebhaft. |

Da das Pyrogallol einigen Einfluss auf die Entwickelung der Bacterien zu haben schien, ohne sie absolut tödten zu können, so machte ich gleichzeitig die folgenden vier Versuche, um die nöthige Dosis zu bestimmen, welche die Organismen zu tödten im Stande ist. Mehrere Tage altes Pankreas, schon faulend und von starkem Geruch, voll von Bacterien der verschiedensten Formen und hauptsächlich von lebhaften, nach allen Richtungen hin sich bewegenden Bacillen, wurde während 4 Tagen in den folgenden Lösungen bei 35° im Wasserbade erhalten.

| | 5 proc. Pyrogallus-lösung | 3 proc. Pyrogallus-lösung | 2 proc. Pyrogallus-lösung | 1 proc. Pyrogallus-lösung |
|---|---|---|---|---|
| 2. Tag | kein Geruch | kein Geruch | wenig Geruch | Geruch |
| 3. „ | kein Geruch | kein Geruch | kaum bemerkbarer Geruch | sehr wenig Geruch |
| 8. „ | kein Geruch, wenig lebende Bacterien | kein Geruch, keine lebenden Bacterien | kein Geruch, keine lebenden Bacterien | ein wenig Geruch, einige lebende Bacterien |
| 9. „ | ebenso | ebenso | ebenso | ebenso |

11. Tag. Beim Ausschütteln des Inhalts der vier Gefässe kann man bei der 1 proc. Pyrogalluslösung Geruch wahrnehmen, und ist derselbe noch sehr schwach, verglichen mit dem, den dasselbe Pankreas in destillirtem Wasser verbreitet.

### III. Versuche mit Flüssigkeiten, in welchen thierische faulende Substanzen enthalten waren.

Versuch Nr. 9. Eine gewisse Menge Pankreas wurde in destillirtes Wasser gebracht und bei 35° erhalten. Sobald sich darin eine grosse Menge Vibrionen entwickelt hatte, wurde die Flüssigkeit in zwei Hälften getheilt. Dem ersteren fügte ich das gleiche Volum einer 1 proc. Pyrogalluslösung zu, der anderen die gleiche Menge destillirtes Wasser. 2 Tage später bemerkt man in der mit Wasser versetzten Flüssigkeit eine viel grössere Menge Mikroorganismen als in der, welcher Pyrogallol zugesetzt wurde. Am 4. Tage ist der Unterschied noch viel merklicher, aber die Bacterien verschwinden nicht vollständig in dieser Substanz, weil die Lösung zu verdünnt war.

Versuch Nr. 10. In einer Flüssigkeit, in welcher 8 Tage lang Ochsenfleisch und Pankreas sich befand, sieht man eine ungeheuere Anzahl Bacterien sich bewegen.

Weil ich hauptsächlich in den oberen Schichten den sich charakteristisch bewegenden Bacillus subtilis sah, so habe ich davon für die künftigen Versuche genommen. Alle Bacillen sind in Bewegung und bei tausendfacher Vergrösserung sieht man etwa 150 unter dem mikroskopischen Gesichtsfelde. Nachdem ich in zwei Gefässe die gleiche Menge dieser Flüssigkeit (100 g) gebracht habe, füge ich der ersten 30 g einer 10 proc. Pyrogalluslösung zu und der zweiten 30 g destillirten Wassers. 5 Stunden später, unter dem Mikroskop untersucht, zeigt die erste Flüssigkeit nicht einen lebenden Mikroorganismus, alle Bacillen sind unbeweglich, während im Gegentheil in der zweiten sich nichts verändert hat; alle Vibrionen leben. 4 Tage später sind die Bacillen in der mit Pyrogallol versetzten Flüssigkeit als Detritus zu Boden gesunken und haben sich mit einer Schicht einer bräunlichen, humusartigen Masse umgeben, wie sie sich gewöhnlich auf Körpern, die in einer Pyrogalluslösung sich befinden, ablagert. Kein Vibrion zeigt eigene Bewegungen. In der zweiten Flüssigkeit sind die Bacterien lebend, die Bacillen zeigen alle die ihnen charakteristischen Bewegungen.

Versuch Nr. 11. In einer Flüssigkeit, in der mehrere Tage Pankreas sich befunden hat, finden sich Bacterien von verschiedener Form in grosser Anzahl,

während sich gleichzeitig ein widerlicher Geruch entwickelt. Ich fügte zu 100 g dieser Flüssigkeit 100 g 5 proc. Pyrogallussäure zu. Am folgenden Tage ist der Geruch fast gänzlich verschwunden; 3 Tage später ist keine Spur von Geruch wahrnehmbar und alle Bacterien sind todt.

## IV. Directe Versuche mit Bacterien.

Ich kam auf den Gedanken, direct unter dem Mikroskop die Wirkung der Pyrogallussäure auf die Bacterien zu beobachten.

Versuch Nr. 12. Ich nahm für diese Beobachtungen von derselben Flüssigkeit, die zum Versuch Nr. 10 gedient hatte. Bacillen sind in grosser Anzahl darin enthalten, schöner und lebhafter, als ich sie nur jemals Gelegenheit hatte zu beobachten. Ein Tropfen dieser Flüssigkeit ist unter ein Mikroskop mit tausendfacher Vergrösserung gebracht. Während ich beobachte, füge ich mit einem Glasstäbchen einen Tropfen 10 proc. Pyrogalluslösung zu. Es vollzieht sich augenblicklich in dem Gesichtsfelde eine grosse Bewegung, verursacht durch die Vermischung der beiden Flüssigkeiten. Sobald die Bewegung sich gelegt hat, ist es leicht zu erkennen, dass alle Bacillen unbeweglich sind. Dieser Versuch, mehrere Male wiederholt, hatte stets denselben Erfolg.

Ebenso wurde mit einem Tropfen 5 proc. Pyrogallussäure verfahren; da der Tropfen der der Flüssigkeit zugeführten Lösung etwas stärker war als der Tropfen der auf dem Objectträger sich befindenden faulenden Flüssigkeit, so folgt daraus, dass die Mikroorganismen sich also in einer ungefähr 3 proc. Pyrogalluslösung befanden. Die Bacterien hörten eine Minute später auf sich zu bewegen. Dieser Versuch wurde oft nach einander wiederholt, immer mit demselben Erfolge. Eine weniger starke Lösung bewirkte augenblicklich, dass sich die Bacillen zu bewegen aufhörten. Um mich sicher zu überzeugen, dass es das Pyrogallol sei und nicht der Einfluss einer kälteren Flüssigkeit oder die Verdünnung der die Vibrionen enthaltenden Flüssigkeit, welches diese Wirkung ausübte, machte ich dieselben Versuche, indem ich statt der Pyrogalluslösung einen Tropfen destillirten Wassers hinzufügte; die Bacillen hörten nicht einen Augenblick auf sich zu bewegen. Es war nöthig, sich zu überzeugen, ob die auf die Bacterien hervorgerufene Einwirkung dauernd sei, oder ob diese einige Minuten später aufs Neue anfangen würden sich zu beleben. Ich beobachtete während 30 Minuten unter dem Mikroskop ein Präparat, in welchem die Bacillen durch 5 proc. Pyrogalluslösung unbeweglich gemacht worden waren. Sie blieben unbeweglich, obgleich das Präparat nicht eingetrocknet war. Es ist also sicher, dass diese Organismen, sobald sie in eine 3 proc. Pyrogalluslösung kommen, augenblicklich getödtet werden.

## V. Einfluss des Pyrogallols auf die Alkoholgährung.

Es war nicht ohne Interesse, zu untersuchen, ob diese Substanz, welche die Fäulnissvibrionen tödtet, auch die Entwickelung der alkoholischen Hefe verhindern würde [1]).

[1]) Wir haben vor 4 Jahren (Journ. prakt. Chem. [2] **12**, 151) bei Gelegenheit unserer Versuche über die gährungshemmende Wirkung der Salicylsäure auch den Einfluss von Pyrogallussäure auf die alkoholische Gährung geprüft, und dieselbe in $^{5}/_{10}$proc. Lösung ohne Erfolg

Versuch Nr. 13. 5 g Traubenzucker werden zur einen Hälfte in 1 proc. Pyrogalluslösung, zur anderen Hälfte in 100 g destillirten Wassers aufgelöst. In jedes Gefäss bringt man 1 g Bierhefe; die beiden Gefässe bleiben offen stehen bei gewöhnlicher Temperatur.

| Pyrogalluslösung. | Gefäss mit Wasser. |
| --- | --- |
| 1 Tag später: Die Flüssigkeit ist klar, keine Gasentwickelung, kein Geruch nach alkoholischer Gährung. | Gasentwickelung, die Flüssigkeit ist trübe und verbreitet einen Geruch nach Alkohol. |
| 2 Tage später: Ebenso. | Ebenso. |
| 3 Tage später: Die Flüssigkeit ist noch immer durchaus klar und ohne Gasentwickelung. | Die Gasentwickelung ist fast zu Ende, der Alkoholgeruch sehr deutlich. |
| 20 Tage später: Die Flüssigkeit ist dunkler geworden wie alle Pyrogalluslösungen; aber sie ist klar geblieben. Kein Geruch und ihre Oberfläche ist nicht mit Schimmel bedeckt. | Die Flüssigkeit ist trübe und hat ziemlich starken fauligen Geruch. Auf ihrer Oberfläche hat sich eine dicke Schicht Schimmel gebildet. |

Derselbe Versuch, zum zweiten Male mit 1 proc. sechs Wochen alter Lösung angestellt, hatte als Resultat eine weniger starke und um einen Tag verzögerte Gährung in der Flüssigkeit, welche das Pyrogallol enthielt. Andere Versuche liessen mich wahrnehmen, dass 1 proc. selbst frische Lösung nicht nothwendig die Gährung des Traubenzuckers verhinderte, dagegen sah ich niemals dieselbe sich in 2 proc. Pyrogalluslösung vollziehen. Folgenden Versuch habe ich darüber angestellt.

Versuch Nr. 14.

| 10 g Traubenzucker, 300 g 2 proc. Pyrogalluslösung, 2 g Hefe. | 10 g Traubenzucker, 300 g destillirtes Wasser, 2 g Hefe. |
| --- | --- |
| 1 Tag später: Flüssigkeit klar, kein Gas. | Die Flüssigkeit ist trübe und entwickelt Gas. |
| 2 Tage später: Ebenso, kein Geruch. | Ebenso, alkoholischer Geruch. |
| 3 Tage später: Ebenso. | Deutlicher Alkoholgeruch. |
| 4 Tage später: Ebenso. | Die Gasentwickelung hat aufgehört. |
| 5 Tage später: Kein Schimmel. | Es bilden sich Schimmelpilze auf der Oberfläche. |
| 6 Tage später: Kein Alkohol bei der Destillation. | Alkohol lässt sich bei der Destillation nachweisen. |

## VI. Verhindert Pyrogallol die Bildung von Schimmel?

Vorweg will ich bemerken, dass sich niemals Organismen auf der Oberfläche von Zuckerlösung mit Pyrogallol zeigten, während dies stets bei denen ohne Pyro-

**angewandt. Erwägt man, dass die Salicylsäure in $^1/_{20}$ proc. Lösung die Gährung selbst bei Anwesenheit ihrer 30 fachen Hefenmenge zu verhindern im Stande ist, so gelangt man zu dem Resultate, dass die gährungshemmenden Wirkungen des Pyrogallols, verglichen mit denen der Salicylsäure, gering sind. H. Kolbe und E. v. Meyer.**

4. Die Pyrogallussäure verhindert die Alkoholgährung. In Gegenwart von alkoholischer Hefe spaltet sich der Traubenzucker nicht, sobald er in eine 2 proc. Pyrogalluslösung getaucht wird.

5. Das Pyrogallol verhindert die Schimmelbildung. — Die oben beschriebenen Versuche bestätigen (wenigstens was das Pyrogallol betrifft) meine theoretischen Voraussetzungen. Es ist eine sehr sauerstoffgierige Substanz, welche zweifellos antiseptische Eigenschaften besitzt.

Man könnte sich indessen noch fragen, ob das Pyrogallol diese antiseptischen Eigenschaften seiner Neigung, Sauerstoff zu absorbiren, verdankt, oder ob vielleicht die fäulnisswidrige Wirkung eine allgemeine Eigenschaft aller aromatischen Phenole wäre, wie des Phenols par excellence. Diese Frage ist noch nicht spruchreif. Nachdem ich diese Resultate, die, wie ich glaube, nicht ohne theoretisches Interesse sind, erhalten habe, lag die Frage nahe, ob es nicht möglich sei, dieselben praktisch zu verwerthen; mit anderen Worten, ob nicht das Pyrogallol (als antiseptisches Mittel) in die Therapie eingeführt werden könnte. Die toxischen Eigenschaften dieser Substanz hätten einige Furcht einflössen können, Versuche an Kranken damit anzustellen, wenn ich nicht gewusst hätte, dass das Pyrogallol nicht durch das Zellengewebe der Cutis absorbirt werde[1]) und wie geringe Mengen der Substanz nöthig sind, um die Desinfection zu verhindern. Ausserdem haben die oben angeführten Versuche anderer Autoren gezeigt, dass man in das Blut eines Hundes eine Dosis von 6.5 g Pyrogallol in verdünnter Lösung spritzen konnte, ohne dass der Tod erfolgt wäre. Ich habe also einige Versuche an Kranken angestellt, ohne jedoch grosses Gewicht darauf zu legen, da der Zweck dieser Arbeit mehr ein theoretischer, als ein praktischer war. Die folgenden Beispiele mögen genügen:

Versuch Nr. 16. Bei einem jungen Mädchen, mit Ozäna behaftet, floss aus der Nase ein sehr übelriechender Eiter. Unter dem Mikroskop bemerkte man darin Diplococcen und Mikrococcen. Es wurden vermittelst des Irrigators mehrere Male am Tage Waschungen mit 2 proc. Pyrogalluslösung vorgenommen. Zwei Tage später hatte sich die Absonderung bedeutend vermindert, und der Geruch war weniger stark. 4 Tage später war der Geruch ganz verschwunden, die Nase, deren Schleimhaut eine dunkelerdige Farbe angenommen hatte, war fast trocken.

Ich wendete ebenfalls Gurgelwasser von 1 bis 2 proc. Lösung bei einem Kranken an, der an ulcerirendem Krebs der Zunge litt und der einen üblen Geruch verbreitete. Obgleich ich glaube, dass sich diese Unannehmlichkeit durch mein Medicament wesentlich vermindert hat, kann ich diesem Versuch, der nur wenige Tage dauerte, doch keine grosse Wichtigkeit beilegen, da der Kranke später operirt wurde.

Versuch Nr. 17. Ich verdanke der Freundlichkeit des Herrn Professor Kocher die Ausführung eines Versuches, wobei das Phenol vollständig durch das Pyrogallol ersetzt wurde, sowohl während der Operation, als auch für die Verbände. Es handelte sich um eine ziemlich bedeutende Rückenwunde; dieselbe wurde gereinigt und genäht. Man konnte bemerken, dass das abfliessende Blut augenblicklich

[1]) Husemann, Pflanzenstoffe, Berlin 1871.

venös wurde unter dem Einfluss des mit dem Stäubungsapparat zugeführten Strahles von Pyrogallussäure. Die Wunde schloss sich sogleich und der Lauf der Heilung war so günstig, wie man es bei Anwendung von Phenol nur hätte verlangen können. Ungeachtet dieser zufriedenstellenden Resultate kann ich das Pyrogallol nicht zu solchen Operationen empfehlen, zu denen eine grosse Anzahl Instrumente erforderlich sind, da unter dem Einfluss dieser Substanz der Stahl schwarz wird, und die auf den Instrumenten sich absetzende Schicht die Hände schwarz färbt. Man kann diese Flecke durch Reiben mit einer Lösung von Oxalsäure oder oxalsauren Salzen entfernen und den Instrumenten ihre natürliche Farbe wiedergeben, indem man sie in einer concentrirten Sodalösung wäscht. Andererseits muss man aber, um gerecht zu sein, bemerken, dass das Pyrogallol selbst in sehr concentrirten Lösungen, obgleich es ein wenig die Haut färbt, dieselbe doch niemals angreift und dass es niemals das unangenehme Jucken verursacht, wie die Carbolsäure. Ein anderer Vortheil besteht noch darin, dass das Pyrogallol durchaus ohne Geruch ist. Da das Pyrogallol die Zersetzung des Harns verhindert und ihn sauer erhält, so ist wohl hauptsächlich bei den Krankheiten der Harnblase diese Substanz berufen, von Nutzen zu sein, indem sie sowohl antiseptisch, als adstringirend wirkt.

Da man allgemein annimmt, dass die Blase nicht absorbirt[1]), hat man keinen Einfluss des Pyrogallols auf den übrigen Organismus zu befürchten und man kann Waschungen der Blase mit $2^1/_2$ bis 3 proc. Lösungen vornehmen, wie es auch Herr Professor Müller in der gynäkologischen Abtheilung unserer Gebäranstalt angeordnet hat.

Die Thatsache, dass das Pyrogallol augenblicklich den putriden Flüssigkeiten den Geruch benimmt, lässt mich annehmen, dass seine Anwendung besonders dann angezeigt wäre, wenn es sich darum handelt, den bedeutenden Gestank einer pathologischen Absonderung zu unterdrücken. In Anbetracht, dass das Pyrogallol in ähnlichem Verhältniss zur Gallussäure, wie das Phenol zur Salicylsäure steht, erwartete ich, dass vielleicht die Gallussäure auch antiseptische Eigenschaften besitzen würde.

Die Versuche jedoch, die ich hierüber sowohl mit der in kaltem Wasser nur wenig löslichen Gallussäure, als deren Salzen ausgeführt habe, haben meiner Erwartung nicht entsprochen. Auf alle Fälle sind die antiseptischen Eigenschaften dieses Körpers, wenn er überhaupt solche besitzt, sehr gering und können nicht mit denen des Pyrogallols verglichen werden.

Bern, Laboratorium von Professor Nencki.

---

[1]) Henri Thompson, Leçons sur les maladies des voies urinaires, trad. franç. 1874.

# Giebt es Bacterien oder deren Keime in den Organen gesunder lebender Thiere?

von

**M. Nencki** und **P. Giacosa.**

Journ. prakt. Chem. **20**, 34.

Unter diesem Titel veröffentlichen die Herren John Chiene und J. Cossar Ewart im Journ. of Anat. and Physiol. (Vol. 13, p. 448, April 1878) Versuche, auf Grund welcher sie die obige Frage mit — nein — beantworten. Wir haben durch die Publication dieser Herren uns veranlasst gesehen, dieselbe einer erneuten experimentellen Prüfung zu unterwerfen, und auf Grund unserer Versuche sagen wir, entgegen den Herren Chiene und Ewart — ja, es giebt Bacterienkeime in den gesunden Geweben lebender Thiere. Dass wir zu diesem Ausspruche berechtigt sind, soll in Folgendem bewiesen werden.

Den Fachgenossen auf diesem Gebiete ist es bekannt, dass der Streit: ob Bacterien, resp. deren Keime in gesunden Geweben lebender Thiere constant vorkommen, nicht neu ist. Es ist namentlich A. Béchamp in Montpellier, welcher in den letzten 20 Jahren in einer Reihe von Publicationen das Vorkommen von Mikrococcen (von ihm Mikrozymas genannt) in gesunden Geweben lebender Thiere constatirte und ihre Umwandlung im todten Gewebe (en dehors de l'économie) zu Torulaformen und Stäbchen (Bacterien) beschrieb. Nach unserer Ansicht liegt aber das Falsche in den Arbeiten Béchamp's darin, dass er die Coccen (Mikrozymas) als einen nothwendigen Bestandtheil der thierischen Zelle auffasst. Nach ihm bewirken die Mikrozymas die chemischen Processe in den Zellen und sind sogar „faiseurs de cellules". Zu dieser letzteren Behauptung wurde A. Béchamp veranlasst durch seine später von Pasteur als unrichtig bewiesene Beobachtung, dass aus den Mikrozymas Hefezellen entständen. Béchamp also, weil er eben die Mikrococcen als für die Thierzellen nothwendig auffasste, hat ihren parasitären Charakter verkannt. Deshalb wurden seine häufig unbewiesenen und den herrschenden Vorstellungen widersprechenden Ansichten, namentlich nachdem man ihm Ungenauigkeit im Beobachten nachgewiesen, entweder mit Misstrauen aufgenommen oder auch gänzlich ignorirt. Es hiesse jedoch das Kind mit dem Bade ausschütten, wollte man die verschiedenen in Montpellier angestellten und durch die Theorien Béchamp's veranlassten Arbeiten unbeachtet lassen. So finden wir in dem von Joseph Béchamp herausgegebenen Buche: „Les Mikrozymas. Montpellier et Paris 1875 p. 22" auch die Angabe, dass M. Servet, préparateur de M. Estor, a fait dans le laboratoire de ce professeur l'expérience suivante: Des organes divers, pris sur le vivant, sont plongés dans une solution d'acide chromique, c'est à dire dans un milieu où rien ne peut vivre, et examinés quelques temps après. La surface durcie laisse apercevoir les tissus normaux inaltérés; l'intérieur de ceux-ci protégés à la fois par

la dissolution d'acide chromique et par la surface coagulé de l'organe, des bactéries à divers degrés de développement.

Unabhängig von den französischen Experimentatoren und hauptsächlich zu ihren Untersuchungen durch die Doctrinen der neueren Pathologie veranlasst, haben in Deutschland Billroth und Tiegel[1]) die These vertheidigt, dass im Gewebe und Blute lebender gesunder Thiere Spaltpilzkeime vorhanden seien. Die Versuchsanordnung Tiegel's war folgende: Die zu untersuchenden Organe oder durch einen glatten Messerschnitt getrennte Stücke derselben wurden einem eben getödteten, meist durch die Carotis entbluteten Thiere entnommen, möglichst rasch an einen vorher gut ausgekochten Seidenfaden gebunden und in 110 bis 115° heisses, geschmolzenes Paraffin, je nach der Grösse des Stückes längere oder kürzere Zeit eingetaucht. Nachdem das an der Oberfläche haften gebliebene Paraffin erkaltet war, wurde das Eintauchen wiederholt, das Präparat jedoch sehr rasch wieder herausgenommen, um die anhaftende Paraffinkruste nicht wieder abzuschmelzen. Nur in der Absicht, die Paraffinkruste zu verstärken, wurde das Eintauchen noch einige Male wiederholt. Nachdem auch die letzte Schicht erkaltet war, wurde das ganze Präparat in eine grössere, eben im Erstarren begriffene (52° warme) Paraffinmasse versenkt und mit dieser erkalten gelassen. Die so erhaltenen Klötze wurden nach ihrem Erkalten eine bestimmte Zeit lang bei Temperaturen von etwa 30° aufbewahrt, dann zerschlagen und ihr Inhalt untersucht. Das starke Brühen der Organe sollte die von aussen her auf die Oberfläche aufgefallenen Keime zerstören, und auch solche, die möglicherweise in der Zeit von der Eröffnung des Thieres bis zum Brühen schon bis zu einer gewissen Tiefe in das Organ eingedrungen sind. Es wurde nun folgendes allgemeine Resultat gewonnen. In Pankreas, Leber, Milz, Speicheldrüsen, Hoden, im Mukelfleisch und im Blut können sich, wenn die Klötze in einer Temperatur zwischen 20 bis 30° gestanden haben, in der angegebenen Zeit von 4 bis 12 Tagen Bacterien entwickelt haben. Am häufigsten ist dies der Fall mit dem Pankreas und finden sich in ihm auch verhältnissmässig die meisten Bacterien; am seltensten und in der geringsten Anzahl finden sie sich im Blute vor.

Obgleich Tiegel den Einwand, dass beim Erkalten der Paraffinklötze sich Risse und Sprünge bilden, wodurch das Eindringen von Bacterien aus der Luft ermöglicht wäre, berücksichtigte und ihn zu umgehen suchte (siehe S. 464 seiner Abhandlung), so wird doch dieser Umstand von den Mikrographen immer von Neuem als gegen die Zuverlässigkeit der Tiegel'schen Versuche sprechend erhoben[2]). Wir wollen deshalb hier hervorheben, dass Dr. Burdon Sanderson[3]) die Tiegel'schen Versuche in der Weise wiederholte, dass das herausgenommene Organ sofort in auf 110° erhitztes Paraffin hineingeworfen wurde. Sobald die Masse erstarrte, wurde die Oberfläche mit venetianischem Terpentin bedeckt, um gegen die Möglichkeit der Inficirung, die beim Zerbersten der sich abkühlenden Paraffinoberfläche geschehen könnte, zu schützen. In einigen Versuchen wurde Oel bei der gleichen Temperatur als Ersatzmittel für das Paraffin angewendet. Burdon Sanderson

[1]) Virchow's Archiv 60, 453.

[2]) Koch, Aetiologie d. Wundinfectionskrankheiten. Leipzig 1878.

[3]) British Medical Journal, Jan. 26, 1878.

giebt an, dass, wenn nach 1 bis 2 Tagen das zu Boden des Gefässes gefallene Organ aus dem Paraffin herausgenommen wird, die Oberfläche desselben in Folge der Hitze geronnen ist. Der centrale Theil hatte die blassrothe Farbe des ungekochten Gewebes und enthielt reichlich Bacterien in den verschiedenen Stadien ihrer Entwickelung.

Hauptsächlich nun deshalb, weil die antiseptische Methode Lister's der Wundbehandlung so ausgezeichnete Erfolge aufzuweisen hat, war es den Herren J. Chiene und Cossar Ewart, trotz der Versuche Tiegel's und Sanderson's, nicht wahrscheinlich, dass die gesunden Organe lebender Thiere Bacterienkeime enthalten könnten. Nach Lister's Verfahren wird bekanntlich jede chirurgische Operation unter Verstäubung einer 5 proc. Phenollösung ausgeführt. Die letztgenannten Autoren gingen daher von der Voraussetzung aus, dass in der Zeitdauer zwischen Herausnahme des Organs und Eintauchen in Paraffin Bacterienkeime aus der Luft auf die Gewebe fallen und so nachher die Fäulniss bewirken können. Dies sollte durch Anwendung des antiseptischen Verfahrens verhütet werden. Ihre Versuchsanordnung war daher folgende: Unter fortwährendem Verstäuben einer 5 proc. Phenollösung wurde einem soeben getödteten Kaninchen die Bauchhöhle geöffnet und die Leber, Milz, Nieren und Pankreas herausgenommen. Die Leber wurde in mehrere Stücke zerschnitten, einige Stücke in antiseptische (d. h. in Phenollösung getränkte), andere dagegen in unpräparirte Gaze gewickelt; wieder andere wurden in ausgeglühte Gefässe gethan, welche entweder durch Wolle, Gaze oder Glasdeckel beschützt wurden. Aehnlich verfuhr man mit den anderen Organen. Nach drei Tagen wurden die Organe untersucht, und es zeigte sich, dass in all den Theilen, die in antiseptische Gaze gewickelt waren, keine Spur von irgend welchen ausgebildeten Bacterien zu finden war. Isolirte, bewegliche Körnchen waren zahlreich vorhanden, ihre Bewegung aber war eine einfach molekulare (Brownian nature). Die Herren Chiene und Ewart ziehen daher den Schluss, dass, wenn die Organe augenblicklich nach dem Tode mit antiseptischen Vorsichtsmaassregeln behandelt werden, dann keine Spur von Bacterien zu finden sei; folglich auch weder Bacterien, noch deren Keime in den gesunden Organen der Thiere während des Lebens bestehen. Ist nun dieser Schluss berechtigt? Hindert das Einwickeln in die antiseptische Gaze auch nicht die Entwickelung der in den Geweben selbst enthaltenen Bacterienkeime?

Wir haben folgende Versuche angestellt:

In einem Becherglase von 1/2 Liter Inhalt wurde leichtflüssige, bei 75° schmelzende Metalllegirung (Wood'sches Metall) auf 300 bis 400° erhitzt. Sobald die Legirung auf etwa 150° erkaltete, wurde darauf eine Schicht 5 proc. Phenollösung vorsichtig gegossen und durch Einstellen des Gefässes in kochendes Wasserbad das Metall flüssig erhalten. Hierauf wurde einem Kaninchen, dem vorher die Bauchwand geschoren und mit Phenollösung abgewaschen war, unter Phenolstäubchen (5 proc. Lösung) die Bauchhöhle geöffnet, ein grösseres Stück Leber herausgeschnitten, dasselbe mit einer Pincette gefasst, in die Wood'sche Legirung eingetaucht und so lange hinabgedrückt, bis das erkaltende Metall fest um das Gewebe und die Pincette erstarrte. Sodann liessen wir das Ganze bis zu 4 Tage lang bei 40° stehen.

Dass das Metall beim Erstarren Sprünge oder Risse bekommen würde, war nicht zu befürchten; aber auch für den Fall befand sich über dem Metall ununterbrochen eine 3 bis 5 cm hohe Schicht einer concentrirten Phenollösung, die jedes Eindringen von Keimen aus der Luft unmöglich gemacht haben würde. Eine höchst einfache und nicht minder tadellose Versuchsanordnung war folgende: Ein grösseres, eisenemaillirtes Gefäss (*a*) (siehe beistehende Zeichnung) wurde bis zu zwei Drittel mit reinem Quecksilber gefüllt. Hierauf wurde ein 5 cm weites Glasrohr, dessen eines Ende rund zugeschmolzen, das andere aber offen und glatt abgeschliffen war, ebenfalls mit reinem Quecksilber gefüllt, mit einer Glasplatte geschlossen und in das Gefäss (*a*) eingetaucht, hierauf das Ganze erhitzt, bis das Gefäss (*b*) etwa bis zu einem Drittheil mit Quecksilberdampf erfüllt war. Wenn demnach irgend welche Bacterienkeime in dem Cylinder (*b*) enthalten gewesen wären, müssten sie sicher durch das siedende Quecksilber zerstört worden sein. Man liess nun erkalten, wobei sich das Quecksilber wieder in dem Cylinder (*b*) condensirte, und als die Temperatur in dem Aussengefässe etwa 120° hatte, wurde es mit einer 5 proc. Phenollösung übergossen. Unter den gleichen Cautelen und Anwendung des ganzen antiseptischen Apparates wurde irgend ein inneres Organ einem soeben getödteten Kaninchen (Leber, Herz, Niere, Milz) entnommen und mit einer Pincette in das für den Moment etwas schief geneigte Gefäss (*b*) geführt, wo es nach oben stieg und daselbst verblieb. Der Apparat wurde dann ebenfalls ein bis mehrere Tage lang bei 40° stehen gelassen.

Fig. 8.

Das Ergebniss von auf die eine oder andere oben angeführte Weise angestellten Versuchen war immer zu Gunsten der Annahme, dass in dem gesunden Gewebe lebender Thiere Bacterien enthalten sind. Schon nach 24 stündigem Stehen bei 40° zeigten alle die untersuchten Organe, wie Leber, Niere, Milz, Herz, intensiv fauligen Geruch und unzählige Spaltpilze in verschiedensten Formen. Besonders geeignet zur Demonstration dieser Thatsache ist die Versuchsanordnung mit dem Quecksilbergefäss. Da das Hg unter der schützenden Phenolschicht bis auf 40° abgekühlt werden kann, so verliert das eingetauchte Organ kein Wasser, und auch die in ihm enthaltenen Bacterienkeime werden nicht zerstört, wie das theilweise bei den Versuchen mit Paraffin und Wood'schem Metall der Fall ist. Der Beginn der putriden Zersetzung wird durch die Gasentwickelung angezeigt, welche das Quecksilber herunterdrückt. Bei Organen, wie Pankreas und Leber, stellt sich die Fäulniss mit der gleichen Präcision ein, wie wenn diese Organe an der Luft in offenen Gefässen ständen. Bei den Nieren haben wir den Beginn der Gasentwickelung schon in der 10. Stunde, beim Herzen erst in der 18. Stunde gesehen.

Auch beim Einschmelzen der Organe in Wood'sches Metall stellt sich die Fäulniss regelmässig ein, vorausgesetzt, dass das Organ nicht zu klein war. Als

nach 2 bis 3 Tagen das Metall auf dem Sandbade wieder schmolzen, waren die
webe, wie z. B. Leber, Niere, mit verschiedenen Formen lebhaft beweglicher
altpilze erfüllt. Kleinere Organe, wie Kaninchenpankreas oder Milz, eignen sich
diesen Versuchen nicht; denn obgleich wir nach dem Eintauchen der Milz das
tall möglichst rasch abkühlten, so fanden wir doch beim Aufschmelzen der
girung das Organ ganz durchkocht und folglich auch keine Bacterien. Da die
rren Chiene und Ewart das negative Ergebniss ihrer Versuche der Anwendung
antiseptischen Methode zuschreiben, so halten wir es für nöthig, hervorzuheben,
s in unseren Versuchen dem Lister'schen Verfahren volle Rechnung getragen
rde. Alle zu den Versuchen verwendeten Gefässe wurden vorher mit 5 proc.
enollösung abgewaschen; ebenso wurden die Instrumente direct aus einer 5 proc.
enollösung herausgenommen. Prof. Kocher, Director der hiesigen chirurgischen
nik, der an diesen Versuchen lebhaften Antheil nahm, hat häufig die Heraus-
hme der Organe und Eintauchen derselben, sei es in Wood'sches Metall oder
ter Quecksilber, genau wie bei einer chirurgischen Operation nach Lister's
thode besorgt. Weshalb ist denn aber die Fäulniss in den Versuchen der Herren
iene und Ewart ausgeblieben? Dass weder Verstäuben, noch eine momentane
rührung mit Phenollösung die Keime in den Geweben gänzlich tödtet, geht aus
seren Versuchen hervor, wo die Organe durch die Phenollösung hindurch in
ood'sches Metall, oder unter Quecksilber eingebracht wurden und doch Bacterien-
twickelung und übler Geruch eingetreten sind. Anders verhält es sich wohl,
nn das Bacterienkeime enthaltende Organ längere Zeit hindurch mit einem mit
enollösung getränkten Gegenstande in directer Berührung bleibt. Prof. Kocher
t die Versuche der Herren Chiene und Ewart wiederholt und ihre Resultate
stätigt gefunden. Es wurde unter Phenolverstäubung z. B. Leber einem frisch
tödteten Kaninchen entnommen und in Phenolgaze, sodann Watte, schliesslich
ansparentleinwand eingewickelt und bei 40° 2 Tage lang gehalten. Nach Verlauf
ser Zeit zeigte die Leber keine Fäulniss, weder Bacterien, noch üblen Geruch.
s wir aber die Leber, die einen schwachen Geruch nach Phenol besass, mit etwas
asser abspülten und das filtrirte Spülwasser durch Erhitzen bis zum Sieden ent-
weissten, so gab das eiweissfreie Filtrat, mit Bromwasser versetzt, einen reichlichen
ederschlag von Tribromphenol. — Weshalb also in diesem Falle die Fäulniss ausge-
eben ist, war klar. Wir wiederholten den Versuch vollkommen ceteris paribus,
r mit dem einzigen Unterschiede, dass die herausgenommene Leber, statt direct
Phenolgaze eingewickelt zu werden, zwischen zwei genau auf einander passende
hrgläser, die vorher in Phenollösung lagen, und dann über freier Flamme rasch
trocknet wurden, gebracht wurde. Nach 2 Tagen waren in der Leber neben
ccen und Streptococcen Stäbchen und Köpfchenbacterien vorhanden. Damit
ser letzte Versuch gelingt, ist es nothwendig, dass die Uhrgläser nicht zu klein
d gut auf einander geschliffen sind.

Die Herren Chiene und Ewart führen einen Versuch an, wo sie in eine Niere
rch die Nierenarterie eine bacterienhaltige Lösung einspritzten, und in antiseptische
aze einwickelten. In dieser Niere fand Fäulniss statt. Dieser Versuch kann aber
gentlich nicht als Controlversuch gelten, denn zur Tödtung bereits entwickelter

Bacterien sind jedenfalls grössere Mengen Phenol nöthig, als wie zur Abhaltung der Entwickelung von in Geweben enthaltenen Keimen.

Es ergiebt sich hieraus, dass, obgleich die Bacterienkeime in den Geweben lebender Thiere constant vorkommen, die antiseptische Wundbehandlung durchaus begründet ist. Unser Verständniss der ausgezeichneten Erfolge des Lister'schen Verfahrens wird dadurch nur klarer, denn wir finden, dass nicht allein durch das Verstäuben des Phenols während der Operation und durch Anlegen des antiseptischen Verbandes die in der Luft vorhandenen Keime abgehalten werden, sondern dass auch durch Imbibition der Wunde von dem Verbande aus mit der fäulnisswidrigen Substanz die im Gewebe enthaltenen Keime unschädlich gemacht werden.

Untersucht man bei starken Vergrösserungen die Gewebe, z. B. Leber oder Pankreas soeben getödteter Thiere, so findet man um die Zellen herum in grosser Menge kleine Kügelchen von 0.5 bis 2 Mikrometer im Durchmesser. Sie wurden früher „körniger Detritus" genannt. In dem Buche von Béchamp sind diese Körnchen abgebildet und als Mikrozymas bezeichnet. Wie der eine von uns [1]) schon früher hervorgehoben hat, finden sich jedoch in frischen, gesunden Geweben keine entwickelten Formen der Spaltpilze, wie etwa Stäbchen oder Ketten von Coccen oder Bacterien. Erst 2 bis 4 Stunden nach dem Tode werden die Torulaformen und noch später die cylindrischen Stäbchen sichtbar. Wir sind deshalb geneigt, anzunehmen, dass in den gesunden Geweben lebender Thiere nicht fertig entwickelte Bacterien, sondern vorwiegend deren Keime (Sporen) enthalten seien. Wenn aber aus kleinen Kügelchen (Sporen) sich später Stäbchen entwickeln, so ist damit nicht gesagt, dass sie alle als Sporen von Mikrobacterien oder Bacillen zu betrachten seien. Vor Kurzem [2]) hat der eine von uns aus einem eitrigen, pleuritischen Exsudat die charakteristischen Fäulnissproducte wie Indol und Phenol dargestellt, während die in dem Eiter vorhandenen Organismen einzig und allein durch die Kügelchen von 0.5 bis 1 Mikrometer im Durchmesser repräsentirt waren. Eine Unterscheidung zwischen den Mikrococcen und den als Sporen der Stäbchen zu betrachtenden Kügelchen ist vorläufig nicht möglich.

In unseren Versuchen betrug die Zeitdauer von der Eröffnung der Leibeshöhle des Kaninchens bis zum Eintauchen der Leber unter Quecksilber oder Wood'sches Metall nur 20 bis 30 Secunden. Es ist schon deshalb höchst unwahrscheinlich, dass die nachher eingetretene Fäulniss durch Anfliegen von in der Luft enthaltenen Keimen bewirkt worden sei. Wäre dies der Fall, so müsste in der That die Luft mit Bacterien und ihren Keimen in einer Weise erfüllt sein, wie dies unseren bisherigen Erfahrungen gänzlich widerspricht. Es wäre dann vollständig unbegreiflich, dass bei einer derartigen Verbreitung der Spaltpilze und deren Keime gerade unsere Gewebe frei davon sein sollten. Wir haben absichtlich unsere Versuche in einem Zimmer ausgeführt, in welchem gar keine Untersuchungen über Spaltpilze angestellt werden; auch die Kaninchen wurden nicht im Laboratorium gehalten, sondern stets frisch vom Markt zu den Experimenten geholt. Direct angestellte Versuche zeigten,

[1]) M. Nencki, Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas. Bern 1876. S. 35. — Dieser Band S. 181.

[2]) Journ. prakt. Chem. [2] **19**, 355. — Dieser Band S. 448.

Tafel V.

Fig. 1a.

Fig. 1b.

Fig. 2.

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn in Braunschweig.

dass in unserem Laboratorium, wo seit Jahren ununterbrochen Untersuchungen über Fäulniss angestellt werden, die Luft mehrere Stunden durch eine Nährlösung geleitet werden musste, ehe dieselbe mit Fäulnissbacterien inficirt wurde [1]).

In der Wissenschaft haben sich die Theorien nach den Thatsachen zu richten und nicht umgekehrt. Die Doctrinen der Pathologie müssen die Thatsache, dass die gesunden Gewebe lebender Thiere Bacterienkeime enthalten, anerkennen und sie beim Forschen nach den Ursachen der Infectionskrankheit in Betracht ziehen. Es ist uns übrigens unverständlich, weshalb die Vertheidiger des „contagium vivum" sich so sehr gegen die Anerkennung dieser Thatsache sträuben. Das Vorkommen der Keime gewöhnlicher Fäulnissbacterien beweist nicht, dass bestimmte pathogene Spaltpilze in den gesunden Geweben enthalten seien. Im Gegentheil, erst dadurch, dass es bewiesen ist, dass die Keime der gewöhnlichen Fäulnissbacterien in gesunden Geweben constant vorkommen, gewinnt die Ansicht, dass die Ursache verschiedener Infectionskrankheiten gewisse Formen der Spaltpilze sind, eine positive Basis. Denn wenn man weiss, dass die gewöhnlichen Fäulnissbacterien von den Athmungs- und Verdauungswerkzeugen aus in die sämmtlichen Gewebe unseres Organismus eindringen können, so ist die Lehre vom „contagium vivum" nur eine nothwendige Consequenz davon.

Bern, im Juni 1879.

---

## Ueber die chemische Zusammensetzung der Fäulnissbacterien

von

**M. Nencki** und **F. Schaffer.**

(Hierzu Tafel V.)

Journ. prakt. Chem. **20**, 443.

Seitdem Schwann und Cagniard de la Tour die Hefe als einzellige Organismen erkannt haben, sind zahlreiche chemische und physiologische Untersuchungen darüber ausgeführt worden. Wir brauchen nur an die Arbeiten von Schlossberger, Mulder, Mitscherlich u. A. und in neuerer Zeit an die von Pasteur und Schützenberger zu erinnern. Jeder Naturforscher weiss die Bedeutung der durch diese Arbeiten ans Licht gebrachten Thatsachen zu schätzen, und wir brauchen sie hier nicht besonders hervorzuheben. Anders verhält es sich mit unserer Kenntniss der chemischen Zusammensetzung der Spaltpilze. Ausser hier und da zerstreuten vereinzelten Beobachtungen wissen wir so gut wie gar nichts hierüber. Die Sprosspilze bewirken vorzugsweise die Zersetzung der Kohlenhydrate und gedeihen am besten in zuckerhaltigen Säften. Die Zahl aber der organischen Substanzen, welche durch Spaltpilze zersetzt werden, ist eine unbegrenzte. Nicht allein die Spaltung

---

[1]) Vergl. auch F. Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. Bd., 3. Heft, S. 147.

der Zuckerstoffe (die Milchsäure-, die Buttersäure- und die schleimige Gährung) und der Proteïnkörper (die Fäulniss) wird durch Spaltpilze bewirkt, sondern jede organische Verbindung, Kohlensäure und deren nächste Derivate ausgenommen, sobald Ammoniak und gewisse Aschebestandtheile zugegen sind, kann als Nährlösung für die Spaltpilze dienen und wird durch sie zersetzt. Es ist nun von vornherein zu erwarten, dass die chemische Zusammensetzung der z. B. in einer Zuckerlösung gezüchteten Bacterien merklich verschieden sein wird von denen, die sich in einer Eiweisslösung vermehrten. Namentlich dieses Umstandes halber dürfte eine chemische Analyse der aus verschiedenen Nährlösungen gewonnenen Spaltpilze in vieler Hinsicht wichtig für die Kenntniss der biologischen Processe sein.

Der Grund, weshalb bis jetzt keine systematische chemische Untersuchung der Spaltpilze ausgeführt worden, lag weniger in der Schwierigkeit, diese Organismen in für Analysen hinreichender Menge zu gewinnen, als in der Unmöglichkeit, sie aus ihrer Nährlösung zu isoliren und frei von derselben zu erhalten. Es ist Jedermann bekannt, dass die Spaltpilze vermöge ihrer Kleinheit nicht allein durch die Filterporen hindurchgehen, sondern auch dieselben sehr bald verstopfen und so das Abfiltriren und Auswaschen der Nährlösung unmöglich machen. Die Hindernisse, die anfänglich unserem Vorhaben: die chemische Zusammensetzung der Bacterien zu erforschen, sich in den Weg stellten, waren übrigens mannigfach, und erst allmählich haben wir die so einfachen Methoden gefunden, um jene nicht allein in hinreichender Menge zu isoliren, sondern, sit venia verbo, sie in chemisch reinem Zustande darzustellen.

Eine gelegentliche Beobachtung, die wir bei der Destillation fauliger, bacterienhaltiger Flüssigkeiten mit verdünnter Schwefelsäure machten, hat uns zum Auffinden des Verfahrens geführt, nach welchem es uns gelingt, aus jeder bacterienhaltigen Flüssigkeit dieselben daraus abzuscheiden, so dass das Filtrat klar und vollkommen frei von Mikroorganismen ist. Wir haben nämlich gesehen, dass von Bacterien trübe Flüssigkeiten mit verdünnter Schwefelsäure zum Sieden erhitzt einen flockigen Niederschlag bildeten, welcher sich bald in compacteren Massen zu Boden setzte, so dass die darüber stehende Flüssigkeit beim Filtriren ziemlich rasch und gänzlich klar durchlief. Die mikroskopische Untersuchung des flockigen Niederschlages belehrte uns, dass derselbe fast nur aus Spaltpilzen von gleicher Form und Grösse, wie in der ungekochten Lösung, und nur zu dichteren Gruppen zusammengefallen, bestand. Fortgesetzte Versuche haben gezeigt, dass die Abscheidung der Bacterien aus ihrer Nährlösung noch besser als durch verdünnte Schwefelsäure, durch verdünnte Salzsäure geschieht. Am zweckmässigsten setzt man der bacterienhaltigen Flüssigkeit so viel Salzsäure hinzu, dass sie 2 bis 3 Proc. an freier Salzsäure enthält, sodann die Flüssigkeit aufkocht und nur einige Minuten sieden lässt. Man sieht dann, dass die Bacterien zu compacten, weissen Flocken zusammenfallen, so dass die Flüssigkeit durchaus das Aussehen einer albuminhaltigen Lösung hat, aus welcher das Eiweiss durch Erhitzen coagulirt wurde. Je schleimiger und bacterienreicher die Flüssigkeit ist, um so weniger bedarf es der Säure und des Erhitzens, und kann in dem Falle statt Salz- auch Essigsäure angewendet werden. Als die schleimige Zooglöamasse, deren Analysen unten mitgetheilt werden, in dem etwa 50fachen Gewichte

ser vertheilt und mit einigen Cubikcentimetern concentrirter Essigsäure angesäuert le, schrumpfte sie schon in der Kälte zusammen und setzte sich in dickeren sen am Boden des Becherglases ab, so dass ohne wesentlichen Verlust die darüber ende Flüssigkeit abgegossen werden konnte, und die Zooglöamasse, auf ein Filter acht, durch Waschen mit Wasser von dem Rest der Nährlösung befreit wurde. väre uns ohne die Kenntniss dieser Abscheidungsmethode der Spaltpilze unlich gewesen, die genauere Untersuchung der den Fäulnissbacterien eigenthümen und in ihnen in so grosser Menge enthaltenen Eiweisssubstanz auszuführen. h unseren mikroskopischen und chemischen Beobachtungen liegt die Ursache es Vorganges in der durch die Säuren bewirkten Schrumpfung des Schleimes, e auch derjenigen Materie, aus welcher die Zellmembran der Bacterien besteht. ch die Einwirkung der Säuren, sei es in der Kälte oder beim Erhitzen, wird specifische Gewicht der Bacterien grösser, sie schrumpfen, fallen zusammen und en sich deshalb in dicken Flocken am Boden des Gefässes ab. Aus gleichem nde kann das Auswaschen auf dem Filter der durch Säure abgeschiedenen erien nur so lange fortgesetzt werden, bis der Niederschlag einen gewissen, dings sehr geringen Gehalt an Säure erreicht hat. Bei fortgesetztem Waschen t der Niederschlag wieder auf, das Filtrat wird trübe von durchlaufenden Bacn, die dann auch die Filterporen verstopfen und weiteres Auswaschen unmöglich hen. Dieses Verhalten des Bacterienschleimes und der zellmembranbildenden erie erklärt uns, warum die sauere Reaction einer Nährlösung einen so schädn Einfluss auf den Verlauf der Fäulniss und der durch Spaltpilze bewirkten rungen ausübt. Die gebildete Säure tödtet sie, indem sie ihre Zellmembran umpfen macht. Nach den kürzlich publicirten Versuchen von Nadina Sieber[1]) mt schon der Gehalt von 2 pro Mille an freier Säure in einer Nährlösung die niss. Der Umstand ferner, dass Hefe und namentlich Schimmelpilze in viel eren Nährlösungen gedeihen können, lässt darauf schliessen, dass die Zellmembran r Organismen besser den Säuren zu widerstehen vermag. Auf Tafel V sind die ner Hefeabkochung, welcher das gleiche Volum 10 proc. Zuckerlösung zugesetzt le, gefundenen Mikroorganismen abgebildet. Nach achttägigem Stehen an der bei 40° wurde die Flüssigkeit schleimig, fadenziehend und hatte einen ammoalischen, fauligen Geruch angenommen. In Fig. Ia sind die darin vorhandenen rsehrten Spaltpilze abgebildet. Wie man sieht, bestehen sie in überwiegender ge aus Mikrococcen von durchschnittlich 1 Mikrometer im Durchmesser. Fig. Ib stellt gleichen Mikrococcen dar, nachdem die Flüssigkeit mit Salzsäure angesäuert und Sieden erhitzt worden, wobei sie sich in Form eines weissen flockigen Niederages, der sich bald zu Boden senkte, abgeschieden haben.

Durch die Einwirkung der Säure werden den Bacterien einige Bestandtheile ogen; namentlich, wie dies von vornherein zu erwarten war, wird ein Theil der rganischen Salze gelöst; auch geht in geringer Menge das Bacterieneiweiss (das oproteïn s. u.) in die salzsaure Lösung über und kann daraus durch Eintragen Steinsalz in Flocken abgeschieden werden. Die elementare Zusammensetzung

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **19**, 433. — Dieser Band S. 452.

der Bacterien wird aber durch die Behandlung mit Säure kaum merklich verändert. So z. B. ergaben in 2 proc. Gelatinelösung gezüchtete Bacterien, daraus durch Erhitzen mit Salzsäure abgeschieden und durch Extraction mit Alkohol und Aether entfettet, folgende Zahlen:

0.3178 g im offenen Rohre im Sauerstoffstrome verbrannt hinterliessen 0.0104 g Asche und gaben 0.5996 g $CO_2$ und 0.2089 g $H_2O$ oder 53.19 Proc. C und 7.55 Proc. H aschefrei berechnet. Ferner 0.2526 g = 0.2444 g aschefrei gaben 32.5 ccm N-Gas bei 714 mm Barometerstand und 16° Temperatur oder 14.58 Proc. N aschefrei [1]). Die auf der Oberfläche der gleichen Leimlösung entstandenen und nur mit verdünnter Essigsäure in der Kälte abgewaschenen reifen, beweglichen Bacterien nach der Extraction mit Alkohol und Aether enthielten aber 5.03 Proc. Asche und ergaben bei der Elementaranalyse 53.82 Proc. C, 7.76 Proc. H und 13.92 Proc. N auf aschefreie Substanz berechnet.

Für die Gewinnung reiner und unversehrter Bacterien ist die Wahl der Nährlösung von wesentlicher Bedeutung. Eiweisslösungen eignen sich hierfür nicht, denn bei nachherigem Ansäuern oder Erhitzen der bacterienhaltigen Nährlösung werden mit dem Bacterienschleim stets coagulirte Eiweisspartikelchen mit niedergerissen; ausserdem werden in der Nährlösung durch das in Folge der Fäulniss gebildete Ammoniak basische Salze der alkalischen Erden in der schleimigen Flüssigkeit niedergeschlagen, wodurch der Aschegehalt der Bacterien falsch und unverhältnissmässig hoch gefunden wird. Aus dem letzteren Grunde sind auch Lösungen des käuflichen Tischlerleims, welcher über 3 Proc. Asche enthält, als Nährflüssigkeit für Züchtung der Bacterien untauglich. Bacterien auf der Oberfläche einer 4 proc. Tischlerleimlösung bei 40° gezüchtet und nach unten zu beschreibenden Methoden verarbeitet, enthielten z. B. in einem Versuche 12.93 Proc. Asche, wesentlich aus phosphorsaurem Kalk und Magnesia neben kohlensaurem Kalk bestehend, so dass der Bacterienbrei, mit Essigsäure angesäuert, unter Entweichung von Kohlensäure stark aufschäumte. Am geeignetsten für die Gewinnung der Bacterien erwies sich käufliche Gelatine, welche im Handel unter der Marke „Silberdruck“ bekannt ist. Feinere Gelatinesorten erwiesen sich als untauglich, vielleicht wegen ihres geringen Aschegehaltes. Die Qualität „extrafein“ enthält z. B. nur etwa 1 Proc. Asche. Ausser auf Lösungen der Proteïnsubstanzen haben wir auch Bacterien in Lösungen einfacher, organischer Verbindungen gezüchtet und analysirt. Am geeignetsten hierzu erwiesen sich die Lösungen des neutralen schleimsauren Ammoniaks. Eine Lösung von 100 g schleimsauren Ammoniaks in 3 Litern Wasser, welcher noch 2 g saures phosphorsaures Kalium und je 1 g Chlorcalcium, Chlornatrium und schwefelsaure Magnesia zugesetzt werden, mit etwa 1 ccm einer fauligen Flüssigkeit versetzt, geht bei gewöhnlicher Temperatur sehr bald in Gährung über. Die Anfangs auf der Oberfläche auftretende Pilzschicht wächst in die Tiefe, bis nach Verlauf von

[1]) Sämmtliche in dieser Arbeit mitgetheilten Kohlen- und Wasserstoffbestimmungen wurden durch Verbrennung mit chromsaurem Blei und vorgelegtem metallischem Kupfer ausgeführt. Der Stickstoff wurde stets nach der Dumas'schen Methode durch Verbrennen mit Kupferoxyd bestimmt.

etwa 3 Wochen sie in eine schleimige, fadenziehende, von Mikrobacterien von 3 bis 5 Mikrometer Länge durchsetzte Masse verwandelt wird.

Unser Verfahren zur Gewinnung der auf Gelatinelösung entstandenen Spaltpilze war nun folgendes:

500 g Gelatine wurden in 25 Liter destillirten Wassers gelöst und der Flüssigkeit 30 bis 50 ccm Pankreassaft als Bacterienaussaat zugesetzt. Der Saft wurde aus klein zerhacktem Ochsenpankreas, das mit Wasser zu einem dicken Brei angerührt worden, durch Pressen durch ein Tuch gewonnen. Die Flüssigkeit wurde nun in einer grossen irdenen Schale, mit einem Pappdeckel lose zugedeckt, auf dem Wasserbade bei 30 bis 40° stehen gelassen. In der Regel findet sich schon nach 24 Stunden an der Oberfläche eine dünne Haut, welche mit der Zeit an Dicke zunimmt, nach 3 bis 4 Tagen zerreisst und in Fetzen zu Boden des Gefässes fällt. Die anfänglich auftretende Membran enthält noch keine differenzirten Stäbchen, sie ist schleimig, fadenziehend, und mikroskopisch untersucht stellt sie das dar, was von F. Cohn als Zooglöa (Mykoderma Pasteur's) beschrieben worden ist. Eine gute Abbildung dieser Zooglöaformen findet sich in F. Cohn's Beiträgen zur Biologie der Pflanzen, I. Bd., 2. Heft, Taf. III, Fig. 3 und 9. Zur Zeit, wo die oberflächliche Membran eine solche Dicke erreicht hat, dass sie einreisst, sind die in der Schleimmasse befindlichen Kügelchen zu lebhaft beweglichen, in Quertheilung begriffenen Stäbchen geworden. Diese an der Oberfläche entstehende Bacterienhaut liess sich wegen ihrer schleimigen Beschaffenheit mit einem aus sehr feinmaschigem Messingdraht gefertigten Löffel abheben und zunächst durch Abträufeln von dem grössten Theile der Nährlösung befreien. Wir haben nun die zähe schleimige Masse in Wasser vertheilt und mit etwas Essigsäure angesäuert. Es war dann leicht zu sehen, wie mit Säurezusatz der Bacterienbrei in dickeren, compacten Flocken sich am Boden des Gefässes absetzte. Die darüber stehende Flüssigkeit wurde abgegossen, der Bodensatz auf ein Filter gebracht und mit destillirtem Wasser ausgewaschen. Sobald der grösste Theil der Säure entfernt ist, quillt der Bacterienschleim von Neuem auf, verstopft die Filterporen, und das Waschwasser läuft nicht mehr durch. Jetzt wurde der Bacterienbrei für kurze Zeit (1 bis 3 Stunden) auf Fliesspapier ausgebreitet, bis das mechanisch anhängende Wasser eingesogen war. Die so von ihrer Nährlösung befreiten Bacterien stellen eine grauweissliche, manchmal blassrothe, geruchlose, schleimige Masse dar, frisch abfiltrirter Bierhefe ähnlich. Den Bacterienbrei haben wir in gewogene Porcellantiegel gebracht und Anfangs auf dem Wasserbade, später im Luftbade bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknet. Beim Trocknen der Bacterien wird ein Geruch, ähnlich dem nach frischer Fleischbrühe, bemerklich. Die getrockneten Bacterien wurden nach dem Wägen fein gepulvert und zunächst mit Alkohol, sodann mit Aether so lange behandelt, bis nichts mehr dem Bacterienpulver entzogen wurde. Zu diesen Extractionen benutzten wir Anfangs den von Drechsel[1]) empfohlenen Apparat. Jedoch zwei Uebelstände desselben, nämlich die leichte Zerbrechlichkeit des Seitenrohres, sowie die unpraktische Form der das Filter enthaltenden Kugel, haben uns veranlasst, demselben eine einfachere Form zu geben, dessen Zeichnung

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **15**, 350.

wir hier beigeben, und der sehr zweckmässig ist. In das weithalsige Trichter-rohr ($b$) wird das Filter sammt Niederschlag gebracht. Die aus dem Kolben ($a$) aufsteigenden Alkohol- oder Aetherdämpfe durchdringen die im Filter befindliche Substanz, und indem sie im Kühlrohr, das mittelst des Vorstosses ($c$) mit dem Trichterrohr verbunden ist, condensirt werden, fallen sie tropfenweise auf die zu extrahirende Substanz. Eine Verstopfung ist nie zu befürchten.

Der alkoholische Auszug wurde zur Trockne verdunstet und der Rückstand in reinem Aether aufgenommen. Es hinterblieb hierbei, jedoch stets nur in minimalen Mengen, eine amorphe, in Wasser lösliche braune Materie, welche die Reactionen der Peptone zeigte. In den Aetherauszügen befand sich das Bacterienfett, das bei gewöhnlicher Temperatur fest ist und dessen Menge zwischen 6 bis 8 Proc. der trockenen Bacteriensubstanz schwankte. Die Elementar-analyse eines solchen ätherischen Auszuges ergab uns folgende Zahlen:

Fig. 9.

0.1406 g des Fettes gaben 0.3740 g $CO_2$ und 0.1485 g $H_2O$ oder 72.54 Proc. C und 11.73 Proc. H.

Während demnach der gefundene Wasserstoff mit dem durchschnittlichen Wasserstoffgehalte der thierischen und pflanzlichen Fette übereinstimmt, ist der Kohlenstoffgehalt um etwa 1.5 Proc. niedriger gefunden worden. Es ist wahrscheinlich, dass ausser Fett noch andere, kohlenstoffärmere Substanzen in minimaler Menge den Bacterien durch Aether entzogen werden. Nunmehr wurde in dem mit Alkohol und Aether extrahirten Bacterienpulver der Gehalt an Asche sowie an Elementarstoffen bestimmt.

Es war für uns von Interesse, zu erfahren, ob und welche Aenderung die Bacterien in ihrer chemischen Zusammensetzung erleiden, indem sie sich aus den Körnchen innerhalb der schleimigen Masse zu vollständig beweglichen Stäbchen entwickeln. Wir haben erwartet, dass diejenige Mykodermaschicht, in welcher keine Körner (Sporen), sondern nur bewegliche Stäbchen sind, weil sie eben weniger Schleim und hauptsächlich reife Bacterien enthält, bedeutend stickstoffreicher sein würde, als wie die zuerst erscheinende, sehr schleimige Zooglöahaut. Aus den mitzutheilenden Analysen wird man ersehen, dass dem nicht so ist; denn wenn auch die Fehlergrenzen bei derartigen Analysen ziemlich weit sein mögen, so beweist die grosse Uebereinstimmung in dem gefundenen Stickstoffgehalte, dass der Schleim der Fäulnissbacterien nicht aus einer Celluloseart, sondern aus der gleichen Eiweisssubstanz besteht, welche den überwiegenden Bestandtheil der reifen Bacterien ausmacht. Die für Bacterien, welche auf 2 Proc. Gelatinelösung gezüchtet waren, in den verschiedenen Stadien ihrer Entwickelung erhaltenen Zahlen sind nun folgende:

1. Reine Zooglöamasse. Unter dem Mikroskope nur Körnchen, keine Stäbchen. Die Masse sehr schleimig und fadenziehend. 6.0442 g dieser Zooglöamasse bis zu constantem Gewichte getrocknet, verloren 5.129 g Wasser oder 84.81 Proc. 0.8412 g der trockenen Substanz lieferten 0.0664 g Fett oder 7.89 Proc. der trockenen Substanz.

0.2062 g der entfetteten Substanz hinterliessen 0.0094 g Asche oder 4.56 Proc.

0.3146 g des gleichen Präparates gaben 39 ccm N-Gas bei 716 mm Bar. und 16.5° T. = 13.70 Proc. N für die aschehaltige und 14.34 Proc. für die aschefreie Substanz.

0.2373 g des gleichen Präparates gaben 30 ccm Stickgas bei 710 mm Bar. und 17° T. = 13.79 Proc. N-Gas für die aschehaltige und 14.6 Proc. N-Gas für die aschefreie Substanz.

2. Bacterien, zur Hälfte aus Zooglöamasse, zur anderen aber aus entwickelten beweglichen Stäbchen bestehend. Die Masse schleimig, fadenziehend. 8.9118 g davon hinterliessen 1.4412 g trockener Substanz, oder der Wasserverlust war gleich 84.26 Proc. 3.4019 g dieser trockenen Bacterien gaben 0.2182 g Aetherextract = 6.41 Proc.

0.4065 g des entfetteten Präparates hinterliessen, im Platintiegel bis zu constantem Gewicht geglüht, 0.0132 g Asche oder 3.25 Proc. 0.2548 g des entfetteten Präparates = 0.2465 g aschefreier Substanz gaben 0.4833 g $CO_2$ und 0.1729 g $H_2O$ oder 53.07 Proc. C und 7.79 Proc. H. 0.2984 g des gleichen Präparates = 0.2887 g aschefrei gaben 37 ccm N-Gas bei 717 mm Bar. und 21° T. oder 13.82 Proc. N.

3. Reife bewegliche Stäbchen. Die Masse wenig schleimig und nicht fadenziehend. 8.5413 g dieser Bacterien verloren 7.1249 g Wasser oder 83.42 Proc. 1.838 g der bei 110° getrockneten Bacterien mit Alkohol und Aether extrahirt gaben 0.1110 g Fett oder 6.04 Proc. 0.3931 g entfetteter Bacterien hinterliessen 0.0198 g Asche oder 5.03 Proc. 0.2105 g aschefreier Substanz gaben 0.4155 g $CO_2$ und 0.1470 g $H_2O$ oder 53.82 Proc. C und 7.76 Proc. H. 0.2316 g Substanz gaben 28 ccm N bei 16° T. und 708 mm Bar. oder 13.31 Proc. N = aschefrei 14.02 Proc. 0.2097 g Substanz gaben 25.5 ccm N-Gas bei 703 mm Bar. und 15° T. oder 13.15 Proc. N = aschefrei 13.82 Proc.

Folgende Zusammenstellung erleichtert die Uebersicht der gewonnenen Resultate:

| | | Reine Zooglöamasse | Zooglöamasse mit entwickelten Bacterien | Reife Bacterien |
|---|---|---|---|---|
| Wassergehalt | | 84.81 Proc. | 84.26 Proc. | 83.42 Proc. |
| Fettgehalt der trockenen Substanz | | 7.89 „ | 6.41 „ | 6.04 „ |
| Aschegehalt der entfetteten Substanz | | 4.56 „ | 3.25 „ | 5.03 „ |
| Elementare Zusammensetzung der entfetteten Substanz, aschefrei berechnet | C | — | 53.07 „ | 53.82 „ |
| | H | — | 7.79 „ | 7.76 „ |
| | N | 14.34 „ u. 14.60 „ | 13.82 „ | 14.02 „ u. 13.82 „ |

Die Bestimmungen des Wassergehaltes stimmen gut unter einander überein und zeigen gegen unsere Erwartung, dass der Wassergehalt der Zooglöamasse im Vergleich zu dem der entwickelten Bacterien ein kaum merklich grösserer ist. Sie hat ferner relativ den höchsten Fettgehalt, und auch für den Stickstoff wurden merklich grössere, ausserhalb der Fehlergrenze liegende Zahlen erhalten.

Wir haben zu diesen Analysen die an der Oberfläche der Nährlösung befindlichen Bacterien verwendet. Da die in der Flüssigkeit selbst schwimmenden Bacterien nur durch Aufkochen mit Salzsäure abgeschieden werden konnten, so haben wir befürchtet, dass die Salzsäure in der Siedehitze den Spaltpilzen gewisse Bestandtheile entziehen und dadurch ihre elementare Zusammensetzung beeinflussen würde. Es ist dies allerdings nur in sehr beschränktem Grade der Fall, denn die oben erwähnten, durch Erhitzen mit Salzsäure gefällten Bacterien enthielten nach der Extraction mit Alkohol und Aether noch 3.27 Proc. Asche und ergaben 53.19 Proc. C, 7.55 Proc. H und 14.58 Proc. N aschefrei berechnet. Wir verwendeten daher die nach Abheben der oberen Mykodermaschicht aus der faulenden Gelatinelösung durch Erhitzen mit Salzsäure abgeschiedenen Bacterien vorzugsweise zur Untersuchung der näheren Bestandtheile der Spaltpilze, was auf folgende Weise geschah.

Die mit Alkohol und Aether extrahirten Bacterien, welche eine weisslichgraue, ein wenig verfilzte Materie darstellen, haben wir, um die darin enthaltenen Proteïnsubstanzen in Lösung zu bringen, mit verdünnten Alkalien behandelt. Wir machten hierbei die Beobachtung, dass die entfetteten Bacterien mit etwa dem 50 fachen Gewichte 0.5 proc. Kalilösung auf dem Wasserbade mehrere Stunden digerirt, sich bis auf einen geringen Rest darin auflösen. Eine Ammoniak- oder Schwefelwasserstoffentwickelung war dabei nie zu bemerken. Wird von den Bacterien nichts mehr gelöst, was leicht daran zu erkennen ist, dass die Anfangs sich zu Boden setzende Masse verschwindet und nur eine gleichmässige Trübung durch die ganze Flüssigkeit bleibt, so kann durch Filtriren durch gewöhnliches Filtrirpapier die geringe Menge der nicht gelösten Substanz von der Lösung getrennt werden. Die ersten Cubikcentimeter des durchgelaufenen Filtrats sind ein wenig trübe, sehr bald aber verstopfen sich die Filterporen und das Filtrat ist dann vollkommen klar. Die klar durchlaufende Flüssigkeit wird in einem anderen Becherglase aufgefangen und die erste trübe durchgelaufene Partie auf das gleiche Filter aufgegossen. Es ist zweckmässig, 3 bis 4 kleinere Filter aufzustellen, um innerhalb 24 Stunden etwa 500 ccm vollkommen klaren Filtrates, entsprechend 10 bis 15 g gelöster Bacterien, zu erhalten. Dieses Filtrat enthält in Lösung in überwiegender Menge eine eigenthümliche Eiweisssubstanz, die wir Mykoproteïn nennen werden. Diese Eiweissmaterie bildet der Menge nach den wesentlichen Bestandtheil der Bacterien. Wir haben sie aus Bacterien verschiedenster Formen und aus verschiedensten Nährlösungen erhalten und analysirt; so aus mit Zucker versetzten Hefeabkochungen, aus Lösungen des weinsauren, des schleimsauren Ammoniaks und der Proteïnsubstanzen. Das Mykoproteïn bildet ebenfalls einen constanten Bestandtheil der Bierhefe, und fortgesetzte Untersuchungen werden vielleicht zeigen, dass es in allen niedrigen Pilzen enthalten ist. Aus der klaren alkalischen Lösung wird das Mykoproteïn ziemlich vollständig auf folgende Weise erhalten: Man versetzt die Flüssigkeit mit verdünnter Salzsäure.

So lange das Alkali noch nicht neutralisirt ist, entsteht ein Niederschlag, der beim Umrühren wieder verschwindet. Ist die Flüssigkeit mit Säure übersättigt, und wird sie jetzt mit concentrirter Kochsalzlösung versetzt, so fällt das Mykoproteïn in weissen amorphen Flocken aus. Noch vollständiger gelingt die Abscheidung, wenn in die schwach salzsaure Lösung Krystalle von Steinsalz bis zur Sättigung eingetragen werden. Das abgeschiedene Mykoproteïn wird auf ein Filter gebracht und so lange mit gesättigter Kochsalzlösung ausgewaschen, bis das Filtrat nur sehr schwach saure Reaction zeigt. Auch nach lange fortgesetztem Waschen verlor das ablaufende Filtrat die saure Reaction nicht. Die Substanz wurde Anfangs auf Fliesspapier, sodann im Luftbade bei 100° getrocknet. Um das Mykoproteïn von der Hauptmenge des zugleich ausgeschiedenen Kochsalzes zu befreien, haben wir die getrocknete Masse mit wenig Wasser übergossen, wobei sich das Kochsalz zuerst auflöste, während das in Wasser ebenfalls leicht lösliche Mykoproteïn erst darin aufquillt und alsdann in Lösung geht. Durch rasches Filtriren oder auch Abgiessen konnte der grösste Theil des Kochsalzes entfernt werden, so dass das analysirte Präparat nur noch 4 bis 8 Proc. Asche enthielt. Die Substanz wurde nun bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknet und analysirt.

0.3176 g aschehaltiger Substanz im offenenen Rohre im Sauerstoffstrome verbrannt, hinterliessen 0.0269 g Asche oder 8.47 Proc., und ergaben 0.5567 g $CO_2$ und 0.1919 g $H_2O$ oder 52.23 Proc. C und 7.34 Proc. H der aschefreien Substanz. Ferner 0.2671 g des gleichen Präparates = 0.2445 g aschefreier Substanz gaben 33.3 ccm N-Gas bei 717.4 mm Barometerstand und 20° Temperatur oder 14.8 Proc. N-Gas, aschefrei.

0.2996 g = 0.2806 g der aschefreien Substanz gaben 0.5403 g $CO_2$ und 0.1878 g $H_2O$ oder 52.47 Proc. C und 7.43 Proc. H. Ferner 0.1992 g = 0.1866 g aschefrei des gleichen Präparates gaben 0.360 g $CO_2$ und 0.1321 g $H_2O$, oder 52.6 Proc. C und 7.8 Proc. H. Ferner 0.3118 g = 0.292 g aschefrei des gleichen Präparates gaben 39 ccm N-Gas bei 714 mm Barometerstand und 16.5° Temperatur oder 14.55 Proc. N aschefrei.

0.2045 g = 0.1937 g aschefrei eines anderen Präparates gaben 26 ccm N-Gas bei 711 mm Bst. und 13° Temperatur, sonach aschefrei berechnet 14.80 Proc. N.

Wir fügen hier noch eine Analyse des Mykoproteïns hinzu, dargestellt aus Bacterien, welche in der oben erwähnten Lösung des schleimsauren Ammoniaks entstanden sind. Sie wurden ähnlich, wie die Gelatinebacterien, durch Erhitzen der Nährlösung mit Salzsäure abgeschieden und mit Alkohol und Aether extrahirt. Die entfetteten Bacterien haben wir in Kali gelöst und aus der mit Salzsäure übersättigten Lösung das Mykoproteïn durch Eintragen von Steinsalz gefällt.

0.3332 g dieses Mykoproteïns im offenen Rohre im Sauerstoffstrome verbrannt, hinterliessen 0.0158 g Asche und lieferten 0.6068 g $CO_2$ und 0.216 g $H_2O$ oder 52.13 Proc. C und 7.54 Proc. H aschefrei berechnet. Ferner 0.2775 g aschefrei des gleichen Präparates gaben 37.8 ccm N-Gas bei 719.5 mm Barometerstand und 15° Temperatur oder 14.91 Proc. N.

Da das Mykoproteïn in verdünnten Säuren, namentlich beim Erwärmen, leicht löslich ist, und wir gesehen haben, dass beim Kochen der entfetteten Bacterien mit

2 bis 3 Proc. Salzsäure ein Theil des in ihnen enthaltenen Mykoproteïns in Lösung ging und aus dem salzsauren Filtrate durch Eintragen von Kochsalz abgeschieden werden konnte, so haben wir — und zwar mit Erfolg — versucht, auf ähnliche Weise aus der Bierhefe das Mykoproteïn zu gewinnen. Folgendes Verfahren haben wir als das zweckmässigste gefunden. Ein Pfund Presshefe wird in 4 bis 5 Gewichtstheilen $2^1/_2$ proc. Salzsäure vertheilt und unter Umrühren auf dem Sandbade zum Sieden erhitzt. Man erhält die Flüssigkeit nur einige Minuten im Kochen, wobei sie sich bräunlich färbt, lässt erkalten und filtrirt den klaren salzsauren Auszug von dem Bodensatze ab. Werden jetzt in das Filtrat Krystalle von Steinsalz bis zur Sättigung eingetragen, so bildet sich in reichlicher Menge ein flockiger Niederschlag, der nunmehr aufs Filter gebracht, mit Kochsalzlösung ausgewaschen und im Extractionsapparate zuerst mit Alkohol, sodann mit Aether behandelt wird. Das nach dem Ausziehen mit Aether resultirende trockene Pulver wird, um das Kochsalz zu entfernen, mit Wasser gewaschen, bis die Eiweisssubstanz aufzuquellen beginnt. Nunmehr wurde die Substanz im Luftbade bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknet und analysirt.

0.2583 g der Substanz im offenen Rohre im Sauerstoffstrome verbrannt, hinterliessen 0.0124 g Asche oder 4.8 Proc., und gaben 0.4694 g $CO_2$ und 0.1686 g $H_2O$, oder 52.13 Proc. C und 7.61 Proc. H der aschefreien Substanz. Ferner 0.3192 g = 0.3039 g aschefrei gaben 40.7 ccm N-Gas bei 710 mm Bst. und 17° Temperatur oder 14.70 Proc N aschefrei.

0.4801 g eines anderen Präparates hinterliessen im Platintiegel geglüht 0.0925 g Asche oder 19.29 Proc. 0.2243 g dieses Präparates aschefrei gaben 0.4316 g $CO_2$ und 0.1531 g $H_2O$, oder 52.47 Proc. C und 7.58 Proc. H. Ferner 0.3352 g = 0.2706 g aschefrei gaben 36.5 ccm N-Gas bei 715 mm Barometerstand und 18° Temperatur = 14.61 Proc. N.

0.2097 g eines anderen Präparates mit 7.9 Proc. Asche = 0.193 g aschefreier Substanz gaben 26.3 ccm N-Gas bei 720 mm Bst. und 18° Temperatur oder 14.88 Proc. N.

Da wir gesehen haben, dass das durch Eintragen von Steinsalz in den salzsauren Hefeauszug gefällte Mykoproteïn in den Alkoholdämpfen schmilzt und sehr viel davon in Lösung geht, so haben wir versucht, das Fett, ohne vorherige Behandlung mit Alkohol, nur mit Aether zu extrahiren. Die Elementaranalysen der bloss mit Aether ausgezogenen Präparate ergaben uns aber ganz andere Zahlen.

0.5055 g der Substanz gaben 0.0402 g Asche oder 7.95 Proc. 0.2892 g = 0.2662 g aschefrei gaben 0.5392 g $CO_2$ und 0.1830 g $H_2O$, oder 55.24 Proc. C und 7.64 Proc. H. Ferner 0.221 g aschefrei des gleichen Präparates gaben 0.413 g $CO_2$ und 0.1443 g $H_2O$ oder 55.37 Proc. C und 7.88 Proc. H.

0.2435 g des gleichen Präparates = 0.2241 g aschefrei gaben 28.2 ccm N-Gas bei 718 mm Bst. und 19° Temperatur oder 13.65 Proc. N, und 0.3027 g = 0.2786 g aschefrei gaben 35 ccm N bei 710 mm Bst. und 17° Temperatur oder 13.60 Proc. N aschefrei berechnet.

Durch Behandlung der gereinigten (d. h. mit Weingeist und Aether extrahirten) Hefezellen mit sehr verdünnter Kalilauge und Neutralisation des alkalischen Filtrates

erhielt Schlossberger[1]) einen Eiweisskörper in Form eines flockigen Niederschlages, der sich nur in überschüssiger Essigsäure wieder löste, und dessen von Schlossberger ausgeführte Elementaranalysen mit den eben mitgetheilten gut übereinstimmen.

| Schlossberger's Eiweisskörper: | | | Unser Präparat: | |
|---|---|---|---|---|
| C | 55.53 Proc. | | C | 55.24 und 55.37 Proc. |
| H | 7.50 „ | | H | 7.64 „ 7.88 „ |
| N | 14.01 „ und 13.75 Proc. | | N | 13.65 „ 13.60 „ |

Dieser Umstand lässt darauf schliessen, dass entweder durch Alkohol eine Spaltung des Schlossberger'schen Körpers in Mykoproteïn und eine kohlenstoffreichere Substanz stattfindet oder, was wahrscheinlicher ist, dass der Hefe durch Säure oder Alkali zwei verschiedene Eiweisssubstanzen entzogen werden, beide durch Kochsalz fällbar, von denen die kohlenstoffreichere und stickstoffärmere in Alkohol löslich ist, und so von der anderen (dem Mykoproteïn) getrennt werden kann. Allem Anscheine nach enthalten die Fäulnissbacterien, wenn auch in viel geringerer Menge, ebenfalls diese kohlenstoffreichere Substanz. Es wird dies durch den höheren Kohlenstoffgehalt der mit Alkohol und Aether extrahirten Bacterien (53.5 Proc.) im Vergleich zu dem des Mykoproteïns angedeutet. Wir sind mit der Reingewinnung dieser kohlenstoffreichen, in Alkohol löslichen Materie beschäftigt. Sie kann etwa in gleicher Menge, wie das Mykoproteïn, aus dem salzsauren Auszuge der Hefe durch Eintragen von Kochsalz erhalten werden. Wir lassen hier die Zusammenstellung der für das Mykoproteïn verschiedenen Ursprungs erhaltenen Zahlen folgen.

| | 1. Aus Gelatinebacterien | 2. Aus Bierhefe | 3. Aus in schleimsaurem Ammoniak gezüchteten Bacterien |
|---|---|---|---|
| C . . . . . | 52.23 52.47 u. 52.60 Proc. | 52.13 u. 52.47 Proc. | 52.13 Proc. |
| H . . . . . | 7.34 7.43 „ 7.80 „ | 7.61 „ 7.58 „ | 7.54 „ |
| N . . . . . | 14.80 14.80 „ 14.55 „ | 14.70 14.61 u. 14.88 Proc. | 14.91 „ |

Das Mittel aller Analysen ergiebt für das Mykoproteïn die procentische Zusammensetzung: C 52.32, H 7.55 und 14.75 N. Die einfachste aus diesen Zahlen abgeleitete Formel ist $C_{25}H_{42}N_6O_9$, welche 52.63 Proc. C, 7.37 Proc. H, 14.73 Proc. N und 25.27 Proc. O verlangt. Durch Schmelzen mit Kali und Salpeter des aus Bacterien dargestellten Mykoproteïns war darin kein Schwefel nachzuweisen. Aus 1.0032 g Mykoproteïn (aschefrei) erhielten wir nach dem Auflösen der Schmelze in Salzsäure und Zusatz von Chlorbaryum nach 24 stündigem Stehen einen Bodensatz, der nach dem Glühen 0.0590 g wog. Dieser Niederschlag wurde aber bei nachheriger Behandlung mit Salzsäure von der letzteren vollständig gelöst. Aehnliches Resultat erhielten wir bei Wiederholung der Bestimmung. Schlossberger (a. a. O. S. 205) giebt ebenfalls an, dass in seinem Hefeneiweiss kein Schwefel mehr vorhanden war. Auch Phosphor scheint das Mykoproteïn nicht zu enthalten. 0.5644 g

[1]) Ann. Chem. Pharm. 51, 205.

der Substanz, mit reinem Kali und Salpeter geschmolzen, die Schmelze in Salzsäure gelöst, mit Ammoniak übersättigt und mit Magnesiamixtur gefällt, gaben einen Niederschlag, der nach dem Glühen 0.0208 g wog, der aber nicht allein aus phosphorsaurer Magnesia bestand, sondern noch Eisen enthielt. Die geringe Menge der Phosphorsäure rührt jedenfalls von der Asche des Mykoproteïns her, die vorwiegend aus phosphorsaurem Kalk und Magnesia neben Eisen bestand.

Frisch aus seiner Lösung durch Steinsalz abgeschiedenes Mykoproteïn ist in Wasser, Säuren und Alkalien leicht löslich. Nach dem Trocknen bei 110° wird es aber vom Wasser nicht mehr vollständig gelöst. Die wässerige Lösung reagirt schwach sauer. Es gelang uns wenigstens nicht, durch langes Auswaschen die saure Reaction zum Verschwinden zu bringen. Auch Schlossberger erwähnt, dass sein aus der alkalischen Lösung durch Schwefelsäure gefälltes Hefeneiweiss bei achttägigem fleissigem Auswaschen noch immer nicht säurefrei war. In Lösungen neutraler Salze ist das Mykoproteïn unlöslich und wird durch Eintragen dieser Salze bis zur Sättigung aus seiner sauren, nicht aber alkalischen Lösung ziemlich vollständig in weissen, amorphen Flocken gefällt. In der Lösung des Mykoproteïns erzeugen Ferrocyankalium, Gerbsäure, Pikrinsäure und Quecksilberchlorid starke Niederschläge. Salpetersäure giebt nur eine schwache Trübung und keine Xanthoproteïnreaction, durch Alkohol wird das Mykoproteïn aus seiner wässerigen Lösung nicht gefällt. Mit Millon'schem Reagens erwärmt wird es roth, und giebt mit Kupfersulfat und Natronlauge die für die Eiweisskörper charakteristische violette Färbung. Das Mykoproteïn ist optisch wirksam und dreht, wie alle Proteïnsubstanzen, das polarisirte Licht nach links ab. Für die Lösung in 0.5 proc. Kalilauge haben wir die specifische Drehkraft $\cdot\alpha = -79$ gefunden. Man erhält 40 bis 50 Proc. reines Mykoproteïn von dem Gewichte der angewandten entfetteten Bacterien.

Aus allem Mitgetheilten geht zur Genüge hervor, dass das Mykoproteïn eine eigenthümliche, schon durch ihre elementare Zusammensetzung von allen bisher bekannten verschiedene Eiweisssubstanz ist. Es ist durchaus unwahrscheinlich, dass das Mykoproteïn ein secundäres Zersetzungsproduct eines ursprünglich in der Hefe oder Bacterienzelle enthaltenen Eiweisskörpers sein könnte. Säuren oder Alkalien, in der von uns angewandten Concentration und bei so kurzer Dauer der Einwirkung, spalten thierische oder pflanzliche Eiweissstoffe nicht und verwandeln sie höchstens in lösliche, peptonartige Modificationen, von welchen es aber bekannt ist, dass sie noch die gleiche elementare Zusammensetzung haben, wie der ursprüngliche Eiweisskörper. Auch das Mykoproteïn wird durch Einwirkung der Säure in Pepton umgewandelt. Wird die saure Lösung, aus welcher das Mykoproteïn durch Eintragen von Steinsalz abgeschieden worden, neutralisirt und auf dem Wasserbade eingedampft, so hinterbleibt ein Rückstand, aus Kochsalz und einer bräunlichen syrupartigen Materie bestehend, welche letztere alle Eigenschaften der Peptone hat und namentlich die charakteristische rothe Färbung mit Kupfersulfat und Aetzkali giebt. Ob das Mykoproteïn aus Hefe und das aus Bacterien absolut identische Körper sind, worauf die gleiche elementare Zusammensetzung und das gleiche Verhalten gegen Reagentien hindeutet, wollen wir vorläufig unentschieden lassen. Zur Beantwortung dieser Frage wird es nothwendig sein, die Spaltungsproducte der Myko-

proteïne verschiedenen Ursprungs qualitativ und quantitativ zu bestimmen. Man wird dadurch auch Aufklärung erlangen, zu welcher Gruppe der bis jetzt bekannten Eiweissmaterien das Mykoproteïn zu zählen ist. Es ist möglich, dass diejenige Eiweissmaterie, welche durch den Lebensprocess der einfachsten einzelligen Organismen entsteht, auch relativ die einfachste molekulare Structur hat. Wir möchten an dieser Stelle noch besonders den schönen physiologischen Versuch hervorheben, durch welchen die Bildung der complexesten organischen Verbindung, nämlich des Eiweisses im Organismus der Bacterien, dieser kleinsten, nur mit unseren stärksten Vergrösserungen eben sichtbaren einzelligen Wesen, demonstrirt wird. In der oben erwähnten Nährlösung von schleimsaurem Ammoniak, also aus einer verhältnissmässig sehr einfachen organischen Verbindung von bekannter molekularer Structur, bewirkt eine winzige Aussaat von Bacterien, indem sie sich selber vermehren, die Synthese des Eiweisses in so kurzer Zeit, dass z. B. in einem Versuche innerhalb 4 Wochen 250 g schleimsauren Ammoniaks vollständig verbraucht wurden. Es wird hierbei der grösste Theil der Schleimsäure zu Kohlensäure neben geringen Mengen Buttersäure verbrannt. In sehr kleinen Quantitäten entsteht daneben auch Pyrrol. Etwa 5 Proc. aber sind zur Leibessubstanz der Bacterien geworden, die vorwiegend, wie schon die Elementaranalyse zeigt, aus Mykoproteïn besteht. Die im schleimsauren Ammoniak entstandenen Bacterien wurden durch Erhitzen mit Säure gefällt und nach der Extraction mit Alkohol und Aether analysirt. Die Verbrennungen ergaben für ihre elementare Zusammensetzung folgende Zahlen: C 52.70 Proc., H 7.61 Proc. und 13.55 Proc. N aschefrei berechnet, was nur wenig von der Zusammensetzung des Mykoproteïns abweicht. Wollte man aus dem gefundenen Stickstoff den Procentgehalt der Bacterien an Mykoproteïn berechnen, so würde das Mykoproteïn etwa 90 Proc. von dem Gewichte der entfetteten und aschefreien Bacterien betragen.

Es ist bis jetzt üblich gewesen, aus dem gefundenen Stickstoff den Gehalt der Hefe an Eiweiss zu berechnen unter der Voraussetzung, dass das Hefeneiweiss 16 Proc. Stickstoff enthalte. Nachdem wir gezeigt haben, dass das Mykoproteïn einen constanten und nicht unbeträchtlichen Bestandtheil der Hefezellen ausmacht und nur 14.7 Proc. enthält, ist diese Voraussetzung nicht mehr zulässig und der Eiweissgehalt der Hefe bisher zu niedrig angenommen worden.

Wir haben oben erwähnt, dass nach mehrstündiger Digestion der entfetteten Bacterien mit 0.5 Proc. Kalilauge nur noch ein geringer, in Kali unlöslicher Rückstand hinterbleibt. Um die Menge desselben zu bestimmen, wurden in einem Versuche 3.096 g mit Alkohol und Aether extrahirter trockener Bacterien mit dem 50 fachen Gewicht 0.5 proc. Kalilauge 6 Stunden lang auf warmem Wasserbade digerirt. Hierauf wurde von dem in Kali unlöslichen Rückstande abfiltrirt. Mikroskopisch untersucht hat dieser Rückstand nicht mehr die Form unversehrter, ursprünglicher Bacterien. Er bestand aus äusserst zarten, das Licht schwach brechenden Gebilden, welche allerdings die Umrisse der ursprünglichen Bacterien noch hatten, aber verzerrt, aufgequollen und wie zerrissen. Auf Taf. V, Fig. 2 haben wir das mikroskopische Bild wiederzugeben versucht. Nachdem die Lauge abgelaufen war, haben wir den Rückstand zunächst auf Fliesspapier getrocknet, sodann

wurde er, in der Absicht, ihn weiter zu reinigen, in Wasser vertheilt. Wir fanden aber, dass die Substanz in Wasser aufquoll und sich in eine schleimige Masse, ähnlich dem Bacterienschleim, verwandelte, so dass sie gar nicht zu filtriren war. Sie wurde deshalb vom Filter heruntergespritzt und mit einigen Tropfen concentrirter Essigsäure angesäuert. Dadurch schrumpfte sie, setzte sich in Flocken zu Boden und liess sich mit schwach essigsaurem Wasser gut auswaschen. Auf gewogenes Filter gebracht und bis zu constantem Gewichte getrocknet, wog die Substanz 0.1455 g oder 4.7 Proc. von dem Gewichte der angewandten Bacterien. Die trockene Substanz war nicht ganz aschefrei. Auf Platinblech verbrannte sie mit dem Geruche nach verbranntem Horn; sie war also stickstoffhaltig. Den Hauptrest haben wir mit 10 ccm 10 proc. $SO_4H_2$ 8 Stunden lang auf dem Sandbade gekocht, wodurch etwa die Hälfte aufgelöst wurde. Die filtrirte Lösung, mit Natronlauge übersättigt, mit wenig Kupfersulfat versetzt und gekocht, gab eine geringe, aber nicht zu verkennende Abscheidung von rothem Kupferoxydul.

Es ist nicht zu bezweifeln, dass die in verdünntem Kali unlösliche Materie die Zellmembran der Bacterien bildet. In Uebereinstimmung mit den letzten Untersuchungen Schützenberger's und Destrem's[1]) finden wir, dass ähnlich, wie die genannten Autoren für die Hefezellen angeben, auch die Zellmembran der Fäulnissbacterien stickstoffhaltig ist. Durch längere Behandlung der Hefezellen mit Kali erhielten Schützenberger und Destrem einen darin unlöslichen Rückstand, dessen Zusammensetzung sie durch die Formel $C_9H_{16}O_5$ oder ein Multiplum davon ausdrücken. Es ist möglich, dass durch Anwendung von concentrirtem Alkali und längeres Erhitzen auch unsere Substanz stickstofffrei zu erhalten wäre. Die sehr geringe Menge des in Kali unlöslichen Rückstandes hat uns bis jetzt verhindert, zu erforschen, ob das gleiche Verhältniss auch bei den Bacterien stattfindet. Wir können jedoch auf Grund unserer bisherigen Beobachtungen behaupten, dass, ähnlich wie bei der Hefe, auch bei den Fäulnissbacterien die Zellmembran bildenden Schichten nicht ausschliesslich aus einem celluloseartigen Körper bestehen. Die stickstoffhaltige eiweissartige Materie bildet ebenfalls einen constanten Bestandtheil der Bacterienmembran. — Unsere Beobachtung, dass die Zellmembran bildende Substanz dasselbe Schrumpfungs- und Quellungsvermögen, wie die unversehrten Bacterien hat, könnte als weiterer Beweis für die Ansicht angesehen werden, dass der Bacterienschleim — die Zooglöamasse — nichts anderes als aufgequollene Zellmembran ist.

Es wirft sich numehr die Frage auf, als was die Zooglöamasse der Bacterien zu betrachten ist?

Unter Zugrundelegung des Stickstoffgehaltes im Bacterieneiweiss = 14.75 Proc. und der nicht weit von der Wahrheit liegenden Annahme, dass aller Stickstoff der Bacterien in Form von Eiweiss enthalten ist, ergiebt sich aus den oben mitgetheilten Analysen für die Trockensubstanz der unter den gleichen Bedingungen gezüchteten Bacterien in ihren verschiedenen Entwickelungsstadien folgende procentische Zusammensetzung:

---

[1]) Compt. rend. **88**, 384.

| | I. Zooglöamasse | II. Zooglöamasse und Bacterien | III. Reife Bacterien |
|---|---|---|---|
| Eiweiss | 85.76 Proc. | 87.46 Proc. | 84.20 Proc. |
| Fett | 7.89 „ | 6.41 „ | 6.04 „ |
| Asche | 4.20 „ | 3.04 „ | 4.72 „ |
| Nicht bestimmter Rest | 2.15 „ | 3.09 „ | 5.04 „ |

Wenn überhaupt aus diesen so nahe liegenden Zahlen eine Differenz hervortritt, so betrifft sie in erster Linie den nicht bestimmten Rest, welcher in der Zooglöamasse nur 2 Proc., in den reifen Bacterien aber 5 Proc. ausmacht. In diesem unbestimmten Rest ist wohl hauptsächlich die celluloseartige, durch Kochen mit Schwefelsäure in Zucker übergehende Substanz inbegriffen. Es geht hieraus hervor, dass nicht die Zooglöamasse, sondern die reifen, beweglichen Stäbchen die grösste Menge der celluloseartigen, Zellmembran bildenden Substanz enthalten. Die fett- und aschefreie Zooglöamasse mit durchschnittlich 14.47 Proc. Stickstoff würde fast ausschliesslich aus Mykoproteïn bestehen.

Mit diesen chemischen Schlussfolgerungen steht auch die Beobachtung eines ausgezeichneten Mikroskopikers im Einklang. — Nach den Untersuchungen R. Koch's[1]) über die Entwickelung des Bacillus Anthracis geschieht der Uebergang der Sporen in die Bacillen auf die Weise, dass zunächst jede Spur in eine kugelige, glashelle Masse eingebettet erscheint, welche wie ein heller, schmaler, die Sporen umgebender Ring aussieht, deren kugelige Form aber beim Rollen der Sporen nach verschiedenen Richtungen leicht zu erkennen ist. Diese Masse verliert zuerst ihre Kugelgestalt, sie verlängert sich in der Richtung der Längsaxe der ovalen Spore nach der einen Seite hin und wird lang gezogen, eiförmig. Die Spore bleibt dabei in dem einen Pol des kleinen walzenförmigen Körpers liegen. Sehr bald wird die glashelle Hülle länger und fadenförmig, und zu gleicher Zeit fängt die Spore an, ihren starken Glanz zu verlieren, sie wird schnell blass und kleiner, zerfällt wohl auch in mehrere Partien, bis sie schliesslich ganz verschwunden ist (siehe auch die a. a. O. gegebenen Abbildungen).

Diese dünne Protoplasmaschicht, welche jede Spore einhüllt, ist demnach nach Koch die „eigentliche entwickelungsfähige Zellsubstanz". Was bei den einzelnen Sporen des Bacillus Anthracis die glashelle Protoplasmaschicht ist, das ist nach unserer Ansicht bei den Bacterien die Zooglöamasse, in welcher ebenfalls die Sporen Körnchen) eingebettet liegen, und die sich später zu Stäbchen entwickeln. Wie unsere Analysen ergeben, ist die Zooglöamasse kein Kohlehydrat, keine Celluloseart, sondern sie besteht fast nur aus einer eigenthümlichen Eiweisssubstanz, aus der auch die Leibessubstanz der entwickelten Bacterien besteht.

Aus der chemischen Zusammensetzung der Zooglöahaut ergiebt es sich, dass sie gänzlich verschieden ist von dem Spross- und Spaltpilzschleim, wie ihn v. Nägeli beschrieben und Loew[2]) analysirt hat. Derselbe fand für den stickstofffreien Hefeschleim 41.43 Proc. C und 6.60 Proc. H, woraus er die Formel $C_{18}H_{34}O_7$ ableitet.

[1]) Dr. Koch, Untersuchungen über Bacterien in Cohn's Beiträgen zur Biologie der [Pfla]nzen. I. Band, S. 289.

[2]) Journ. prakt Chem. [2] 17, 421.

Die Essigmutter, welche aus einer zähen Gallerte mit eingebetteten kurzen Stäbchen besteht, enthält nach den Analysen von Loew[1]) 98.3 Proc. Wasser und 1.7 Proc. Trockensubstanz, und in der letzteren 3.37 Proc. Asche und nur 1.82 Proc. Stickstoff, woraus v. Nägeli für die Essigmutterzellen etwa 12.6 Proc. aschefreien Zelleninhalt, 84 Proc. aschefreie Cellulose (Pilzschleim) und 3.4 Proc. Asche berechnet. Die Cellulose bildet die dicken schleimigen Membranen, welche zu dem Gallertkuchen verschmolzen sind (v. Nägeli, l. c.).

Man kann die Zooglöaform der Fäulnissbacterien einerseits und die Gallerte der Essigmutter andererseits als die zwei extremen Repräsentanten der beiden Materien, welche die schleimige Beschaffenheit der Spaltpilze bedingen, ansehen; nämlich der eiweissartigen Zellsubstanz und der Cellulose, welche die schleimige Zellmembran bildet. — Aus der elementaren Zusammensetzung und namentlich aus dem Stickstoffgehalte dieser schleimigen Massen dürfte man in jedem besonderen Falle annähernd beurtheilen können, aus wie viel bildungsfähigem Protoplasma oder aus wie viel aufgequollenem Pilzschleim sie bestehen.

Erklärung der Tafel V.

Fig. Ia. Mikrococcen in Hefeabkochung entstanden.
Fig. Ib. Dieselben Mikrococcen durch Erhitzen mit Salzsäure flockig abgeschieden.
Fig. II. Der in 0.5 proc. Kalilauge unlösliche Rückstand der Bacterien aus Zellmembran bestehend.

Die Bilder sind nach einer tausendfachen Vergrösserung (Leitz'sches Ocular III. Objectiv IX, Immersionssystem) gezeichnet.

## Die empirische Formel des Skatols

von

**M. Nencki.**

Journ. prakt. Chem. **20**, 4[illegible]

Als die specifischen Producte der Eiweissfäulniss, namentlich den Verdauungsproducten gegenüber, habe ich in meinen früheren Publicationen die flüchtigen Fettsäuren von Essigsäure ab bis zur Capronsäure inclusive, und die beiden aromatischen Substanzen: das Indol und Skatol, bezeichnet. Die Herren Baumann und Salkowski, welche meine Untersuchungen über die Fäulniss weiter fortsetzten, haben die Zahl der aromatischen Producte noch wesentlich vermehrt, indem sie das Phenol, Kresol, die Phenylpropionsäure, Phenylessigsäure und die Paraoxyphenylessigsäure aus gefaulten Eiweisslösungen isolirten. Dazu kommt noch die kürzlich von Baumann[2]) durch Fäulniss des Tyrosins erhaltene Hydroparacumarsäure.

---

[1]) C. v. Nägeli, Theorie der Gährung. München 1870.

[2]) Ber. **12**, 1450.

Als ein der Eiweissfäulniss eigenthümliches Product habe ich das Skatol schon vor mehreren Jahren erkannt, ohne es jedoch in für Analysen hinreichenden Mengen erhalten zu haben. Es war dies gelegentlich der Arbeit des Herrn Secretan „Ueber die angebliche Umwandlung von Eiweiss zu Fett bei längerem Verbleiben unter Wasser oder in der Erde" — die sogenannte Leichenfettbildung. — Wir erhielten damals zum ersten Male Skatol und konnten es als eine dem Indol sehr ähnliche, aber durch seine charakteristischen Eigenschaften doch davon verschiedene Substanz bezeichnen. — Ich erhielt es später neben Indol durch Schmelzen von Eiweiss mit Kalihydrat, jedoch so wenig davon, dass ich die Hoffnung, es in für Analysen hinreichender Menge zu erhalten, aufgeben musste.

In grösseren Mengen hat Brieger[1]) das Skatol als Product der Dickdarmfäulniss aus menschlichen Excrementen erhalten und analysirt. Aus den wässerigen Destillaten der Excremente werden aber, ausser Skatol, noch andere aromatische Substanzen durch Aether aufgenommen, so das Indol, Phenol und namentlich eine gelbe, ölige Materie, von welcher das Skatol nur schwer und mit vielem Verlust zu trennen ist. Die Elementaranalysen ergaben auch keine, für eine bestimmte Formel scharf stimmenden Zahlen, weshalb die Frage nach der Zusammensetzung des Skatols noch offen gelassen wurde.

Da die Versuche des Dr. Brieger, durch Variationen der Fäulnissbedingungen Skatol in kürzerer Zeit und in grösserer Quantität zu gewinnen, erfolglos blieben, so habe ich zu dem Zwecke den ersten Versuch, wo Skatol nach mehrmonatlicher Fäulniss bei niedrigerer Temperatur erhalten wurde, in grösserem Maassstabe wiederholt.

Es wurden 2330 g frisches Pankreas und 500 g Muskelfleisch, von Fett befreit und klein zerhackt, mit 8 Liter Brunnenwasser übergossen, 5 Monate lang in einem lose zugedeckten Topfe bei Zimmertemperatur der Fäulniss überlassen. In diesem Zeitraume schwankte dieselbe zwischen 3.5° im Minimum und 27.5° im Maximum. Nach einer so langen Fäulniss bei gewöhnlicher Temperatur enthielt die Flüssigkeit kein Indol, sondern nur Skatol.

Nach Verlauf der oben angegebenen Zeit wurde die faulende Lösung mit Essigsäure angesäuert und destillirt; es geht hierbei mit den Wasserdämpfen das Skatol in die Vorlage über und wird zweckmässig aus dem Destillate nach dem Ansäuern mit Salzsäure mittelst Pikrinsäure ausgefällt. Durch Destillation der abfiltrirten, in schönen rothen Nadeln krystallisirenden Pikrinsäureverbindung des Skatols mit wässerigem Ammoniak und Umkrystallisiren aus heissem Wasser der mit Wasserdämpfen übergehenden Substanz, wird das Skatol völlig rein erhalten. Es schmolz bei 95° und zeigte sich in allen sonstigen Eigenschaften als mit dem von Brieger aus menschlichen Excrementen erhaltenen identisch. Von Indol war in den Destillaten keine Spur nachweisbar. Nach so langer Dauer der Fäulniss bei gewöhnlicher Temperatur enthielt die Flüssigkeit hauptsächlich Ammoniak, an Kohlensäure und flüchtige Fettsäuren gebunden. Auf die Gesammtmenge der Flüssigkeit = 8500 ccm berechnet, erhielt ich 48.47 g Ammoniak. Ebenfalls auf die Gesammtmenge der

[1]) Ber. **10**, 1027, und Journ. prakt. Chem. [2] **17**, 124. — Dieser Band S. 239 u. 388.

Flüssigkeit berechnet, wurden 0.285 g Phenol erhalten; ausserdem eine syrupöse, im Aether lösliche, in Wasser unlösliche und darin untersinkende Säure, welche, mit Zinkoxydhydrat gekocht, ein stickstofffreies, in Wasser lösliches und in undeutlichen Blättchen krystallisirendes Zinksalz lieferte. Andere krystalloide Producte, ausser unorganischen Salzen, wurden nicht erhalten: kein Tyrosin und kein Leucin. Der charakteristische Skatolgeruch wurde erst im vierten Monat der Fäulniss bemerkbar.

Ueber diesen Versuch habe ich im medicinischen Centralblatt (Jahrg. 1878 Nr. 47. — Dieser Band S. 433) eine kurze Mittheilung gemacht. Im verflossenen Sommer habe ich nach gleicher Methode wieder Skatol bereitet, und durch Analyse des freien Skatols, sowie der Pikrinsäureverbindung glaube ich dessen Zusammensetzung endgültig festgestellt zu haben.

0.1588 g des einmal aus heissem Wasser umkrystallisirten und im Exsiccator getrockneten Skatols gaben 0.4804 g $CO_2$ und 0.1027 g $H_2O$ oder 82.50 Proc. und 7.18 Proc. H. — 0.1056 g des gleichen Präparates gaben 0.3187 g $CO_2$ und 0.0686 g $H_2O$ oder 82.31 Proc. C und 7.22 Proc. H.

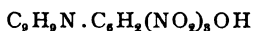
Aus diesen Zahlen lässt sich mit guter Uebereinstimmung die Formel $C_9H_9N$ berechnen, mit welcher auch die früheren für Stickstoff erhaltenen Zahlen (10 bis 11.5 Proc.) am besten übereinstimmen.

| | Versuch: | | | Theorie: |
|---|---|---|---|---|
| C | 82.50 Proc. und 82.31 Proc. | | $C_9$ | 82.44 Proc. |
| H | 7.18 „ „ 7.22 „ | | $H_9$ | 6.89 „ |
| | | | N | 10.67 „ |

Um jedoch die Formel $C_9H_9N$ zu controliren, wurde reines Skatol in heissem Wasser gelöst und mit ebenfalls heisser wässeriger Pikrinsäurelösung im Ueberschusse versetzt. Beim Erkalten krystallisirte das pikrinsaure Skatol in schönen rothen Nadeln aus, welches, über $SO_4H_2$ getrocknet und mit CuO verbrannt, folgende Zahlen ergab:

0.292 g der Substanz lieferten 0.5348 g $CO_2$ und 0.0981 g $H_2O$ oder 49.95 Proc. C und 3.73 Proc. H.

Diese Zahlen stimmen gut mit der Formel:

$$C_9H_9N . C_6H_2(NO_2)_3OH$$

überein, welche 50.00 Proc. C und 3.33 Proc. H verlangt.

Aehnlich wie das von Baeyer[1]) kürzlich analysirte pikrinsaure Indol ist auch das pikrinsaure Skatol aus einem Molekül Pikrinsäure und einem Molekül Skatol zusammengesetzt. Der empirischen Zusammensetzung nach könnte man das Skatol als Methylindol auffassen, und der Umstand, dass bei der Eiweissfäulniss neben Phenol auch Ortho- und Parakresol[2]) entstehen, deutet die Homologie an. Selbstverständlich kann erst die Untersuchung der Zersetzungsproducte des Skatols uns Aufklärung über die molekulare Structur dieses interessanten Körpers verschaffen.

Bern, im October 1879.

[1]) Ber. **12**, 1314.

[2]) Baumann und Brieger in der Zeitschr. f. physiol. Chem. **3**, 149.

# Ueber die Gährung des schleimsauren Ammoniaks

von

## T. Ciszkiewicz.

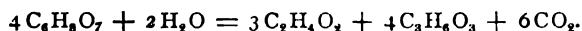
Inaug.-Diss. Bern.

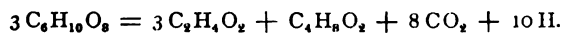
In seinem vor 3 Jahren erschienenen Buche über die Gährung (Les fermentations 1876) führt Schützenberger bei der Besprechung der Buttersäuregährung, ausser den Kohlenhydraten und Milchsäure, eine Reihe organischer Substanzen an, als wie: Tartron-, Citron-, Aepfel- und Schleimsäure, welche bei der durch die geformten Fermente bewirkten Gährung, neben anderen Producten, constant Buttersäure liefern. Die Derivate der Aepfelsäure, die Fumar-, Aconit- und Asparaginsäure, das Asparagin, sollen, wenn sie als Kalksalze den Gährungsfermenten ausgesetzt werden, als Hauptproduct Bernsteinsäure liefern.

Ferner citirt daselbst Schützenberger offenbar die Angabe Redtenbacher's (Ann. Chem. Pharm. 57, 179), dass Glycerin, mit viel Wasser und etwas Bierhefe versetzt, in Gährung geräth, wobei hauptsächlich Propionsäure neben wenig Essigsäure gebildet werde. Die Angabe Redtenbacher's wurde von H. van Roos und Armstrong u. Brown nicht bestätigt. Nach Brown's Angaben ist es sehr wahrscheinlich, dass diese Gährung des Glycerins nicht durch Bierhefe, aber durch Bacterien hervorgerufen wurde. (Ber. 9, 509.)

Nach Fitz wird die Gährung des Glycerins durch zwei Bacillusarten bewirkt, wobei Glycerin bei Anwesenheit von kohlensaurem Kalk bei 40° C. als Hauptproducte Normalbutylalkohol und Normalbuttersäure lieferte. Nebenbei entstehen in ganz kleiner Menge Aethylalkohol und eine höhere Säure, wahrscheinlich Capronsäure. (Ber. 9, 1352.)

Nach Personne soll die Citronensäure nach folgender Gleichung in Milch- und Essigsäure zerlegt werden:

$$4\,C_6H_8O_7 + 2\,H_2O = 3\,C_2H_4O_2 + 4\,C_3H_6O_3 + 6\,CO_2.$$

Dagegen die Schleimsäure in Essig-, Butter- und Kohlensäure gemäss folgender Gleichung:

$$3\,C_6H_{10}O_8 = 3\,C_2H_4O_2 + C_4H_8O_2 + 8\,CO_2 + 10\,H.$$

In den meisten Gährungsversuchen wurden die organischen Säuren als Kalksalze, welchen noch die für die Ernährung der Pilze nöthigen Aschenbestandtheile und Stickstoff als Ammoniaksalz in geringen Mengen hinzugesetzt wurden, angewendet. Die Gegenwart des Kalkes ist nothwendig, um die Säure zu neutralisiren, da bekanntlich alle Spaltpilzgährungen nur in schwach alkalischen oder neutralen Lösungen verlaufen können. Dass aber die säurebindende Basis nicht nothwendig Kalk sein muss, beweist z. B. die Pasteur'sche Nährlösung aus weinsaurem Ammoniak neben nöthigen Aschebestandtheilen.

Es war nun von Interesse, zu erfahren, ob die Ammoniaksalze bestimmter organischer Säuren genau in derselben Weise, wie die Kalksalze derselben, zersetzt werden. Die Vermuthung lag nahe, dass das Ammoniak nicht allein die Rolle der säurebindenden Basis spielen wird. Es war vielmehr zu erwarten, dass bei den durch die Gährung hervorgerufenen chemischen Umlagerungen auch das Ammonium mit in die Reaction eintreten würde, was zur Bildung bestimmter, für ammoniakalische Gährung organischer Säuren charakteristischer Producte führen würde. Es war zu erwarten, dass die Untersuchung der Gährungsproducte der Ammonsalze organischer Säuren die in unserer Kenntniss zwischen der Gährung stickstofffreier Substanzen und der Zersetzung der Proteïnsubstanzen (der Fäulniss par excellence) bestehende Lücke wenigstens zum Theil ausfüllen würde. Wie oben erwähnt, liefert nach Personne die Schleimsäure, als Kalksalz angewendet, Essig-, Butter- und Kohlensäure. Die Buttersäure soll nur im späteren Stadium der Gährung und in relativ geringer Menge auftreten. Es sollte nun durch neue Experimente ermittelt werden, welche Spaltungsproducte die Schleimsäure liefern wird, wenn man sie nicht als Kalk-, sondern als Ammoniaksalz der Gährung unterwirft.

50 g reines neutrales schleimsaures Ammonium wurden in 2 Liter Wasser gelöst und der Lösung noch als Nährsalze 2 g schwefelsaure Magnesia, 2 g phosphorsaures Kali, 0.2 g basisch phosphorsaurer Kalk und 0.2 g Chlornatrium zugesetzt. Die Lösung wurde nun mit einigen Cubikcentimetern fauliger Pasteur'scher Nährlösung (weinsaures Ammoniak) versetzt und in einem mit Glasplatte bedeckten Becherglase, auf einem Wasserbade bei 30 bis 40° C., der Gährung überlassen. Das verdunstete Wasser wurde von Zeit zu Zeit erneuert. Nach 4 Tagen hat sich an der Oberfläche der Flüssigkeit eine dicke Haut gebildet, welche aus lebhaft sich bewegenden Stäbchenbacterien bestand. Die Flüssigkeit wurde stark trübe. Seither konnte man ununterbrochen Vermehrung der Spaltpilze in der Flüssigkeit und namentlich an deren Oberfläche beobachten. Die Mikroorganismen waren hier vorwiegend durch kurze 3 bis 4 Mikrometer lange Stäbchen repräsentirt. Doch waren daneben auch Fadenbacterien (Bacillen) vorhanden.

Nach 3 Wochen hatte die stark getrübte, neutral reagirende Flüssigkeit einen eigenthümlichen, gleichzeitig an Indol und Pyrrol erinnernden Geruch angenommen, der jedoch allmählich schwächer wurde und 5 Tage später gänzlich verschwand.

Während der ganzen Dauer der Gährung wurde keine Gasentwickelung bemerkt.

Nach 40 tägiger Dauer wurde die Gährung unterbrochen und die Flüssigkeit auf folgende Weise untersucht:

Die von den ungelösten Nährsalzen und Bacterien abfiltrirte Flüssigkeit wurde mit 20 ccm concentrirter Schwefelsäure versetzt und um die entstandenen Fettsäuren mit den Wasserdämpfen zu verflüchtigen, destillirt. Da jedoch das übergehende Destillat neutrale Reaction zeigte, so wurde das Erhitzen nur so lange fortgesetzt, bis die Hälfte der Flüssigkeit überdestillirte. Das klare, neutral reagirende Destillat erinnert an den während der Gährung entstandenen Geruch. Es wird mit dem gleichen Volumen Aether geschüttelt. Nach Verdunsten der ätherischen Lösung hinterbleiben einige dunkle Tropfen, welche, mit wenig Wasser versetzt, sich darin nicht lösen und auch nicht krystallinisch erstarren. An der Luft färbt sich die

Flüssigkeit violettroth. Das Oel, welches dem Pyrrol ähnlich riecht, zeigt auch die Reactionen desselben. Mit mehr Wasser geschüttelt, löst es sich zum Theil darin auf. Die wässerige Lösung färbt einen mit Chlorwasserstoff befeuchteten Fichtenspan sofort intensiv roth; ein Tropfen rauchender Salpetersäure ruft in derselben eine dunkelbraune Färbung hervor, woraus sich beim Stehen nach einiger Zeit eine braune, amorphe Substanz absetzt. Obgleich alle diese Reactionen für die Anwesenheit von Pyrrol sprechen, so muss man es doch unentschieden lassen, ob die Substanz wirklich Pyrrol war, weil für eine Analyse die erhaltene Menge zu gering war.

Die mit Aether ausgeschüttelte wässerige Lösung hinterliess, bei gelinder Wärme verdunstet, nur minimale Mengen einer gelblichen, amorphen Masse.

Der Retortenrückstand wurde nun auf folgende Weise untersucht: Um die zugesetzte Schwefelsäure zu entfernen, wurde die Flüssigkeit mit Barytwasser ausgefällt und aus dem Filtrate das überschüssige Baryum durch Kohlensäure entfernt. Das Filtrat vom kohlensauren Baryum hinterlässt, auf dem Wasserbade stark eingeengt, in minimaler Menge einen braunen, körnigen Rückstand, welcher aus mikroskopischen, strahlig angeordneten Nadeln besteht. Die Krystalle verbrennen auf dem Platinblech. An eine weitere Untersuchung derselben war bei der minimalen Menge derselben nicht zu denken. Die von diesen organischen Krystallen abfiltrirte Lauge enthielt in geringer Menge nur unorganische Materien. In der Vermuthung, dass vielleicht beim Neutralisiren der schwefelsauren Lösung mit Barytwasser die unveränderte Schleimsäure als Baryumsalz mit ausgefällt werden könnte, wurde der Niederschlag von schwefelsaurem Baryum mit Salzsäure behandelt; es gelang jedoch nicht, aus der salzsauren Lösung irgend eine organische Substanz in nennbarer Menge zu isoliren.

Aus diesen Versuchen ergiebt sich demnach, dass die 50 g des schleimsauren Ammoniaks, an der Luft bei 40° C. digerirt, durch Spaltpilze nach 40 tägiger Gährung fast vollkommen zu kohlensaurem Ammoniak verbrannt wurden.

Wesentlich andere Resultate wurden erhalten, als schleimsaures Ammonium bei gewöhnlicher Temperatur (15 bis 20° C.) in Gährung versetzt wurde. 250 g schleimsaures Ammonium, 5 g saures phosphorsaures Kali, 2.5 g Chlorcalcium, 2.5 g schwefelsaure Magnesia und 2.5 g Chlornatrium wurden heiss in 7 Liter Wasser gelöst, die filtrirte Lösung mit 3 ccm bacterienhaltiger Flüssigkeit von dem vorigen Versuche als Ferment zugesetzt und in flachen Glasgefässen mit Glasplatten zugedeckt, bei gewöhnlicher Temperatur der Gährung überlassen.

Nach 3 Tagen hat sich an der Oberfläche eine aus Bacterien bestehende Haut entwickelt. 4 Tage später wurde sie abgehoben, worauf sie aber von Neuem entstand. Nun entwickelten sich hier die Bacterien nicht nur an der Oberfläche, sondern die ganze Flüssigkeit wurde von ihnen durchsetzt. Gasentwickelung wurde während des ganzen Gährungsprocesses nicht bemerkt.

Nach 25 Tagen ist die ganze Flüssigkeit schleimig und fadenziehend geworden. Die in der schleimigen Masse vorhandenen Organismen sind ganz homogen aus kurzen 3 bis 4 Mikrometer langen und 0.5 bis 0.6 Mikrometer dicken Stäbchen bestehend. Die Stäbchen sind beweglich, meist einzeln, doch auch in 2- bis 5 gliede-

rigen Ketten. Da es beobachtet wurde, dass die schleimige Masse zum Sieden erhitzt und mit Salz- oder Essigsäure versetzt einen amorphen, flockigen, dem coagulirten Eiweiss ähnlichen Niederschlag gab, so wurde die ganze Flüssigkeit zunächst mit dem halben Volumen Wasser verdünnt, sodann zum Sieden erhitzt und mit starkem Ueberschuss ebenfalls siedender 20 proc. Essigsäure versetzt. Es entwich dabei Kohlensäure. Die angesäuerte Flüssigkeit wurde so lange gekocht, bis sich ein flockiger Niederschlag deutlich abzuscheiden begann. Man liess sie hierauf etwa 30 Stunden lang bei gewöhnlicher Temperatur stehen, bis sich der flockige Niederschlag am Boden des Gefässes absetzte und die Flüssigkeit sich gut decantiren liess. Der Bodensatz ergiebt sich, mikroskopisch bei starker Vergrösserung untersucht, als aus einzelnen Partikeln einer amorphen Masse bestehend, in welcher die gleichen Bacterien von 3 bis 4 Mikrometer Länge einzeln eingebettet liegen. Die Bacterien haben vollkommen ihre Form noch erhalten und werden durch Methylviolett schön roth gefärbt. Dieser Bacterienniederschlag wird auf ein Filter gebracht, mit Wasser ausgewaschen und auf Fliesspapier, sodann im Luftbade bei 110° C. bis zum constanten Gewicht getrocknet, behufs späterer Analyse.

Unterdessen wurde die Untersuchung der von dem Bacterienniederschlage abgegossenen Flüssigkeit unternommen, indem man sie filtrirte und auf dem Wasserbade verdunstete. Es scheiden sich hierbei schwarze humusartige Massen ab, von denen die Lösung durch wiederholte Filtration befreit wird. Erst als die Flüssigkeit bis auf etwa 200 ccm concentrirt worden, schieden sich in der Kälte Krystalle aus, welche aus mikroskopischen, zugespitzten Säulen bestanden. Genauere Untersuchungen zeigten, dass die Substanz unveränderte Schleimsäure war. Durch Vergleich der Krystallformen mit einer frisch bereiteten Schleimsäure, Verwandlung der Krystalle in das Ammoniumsalz, Verhalten beim Erhitzen, wurde die Identität dieser Krystalle mit der Schleimsäure erwiesen. Aus der von den geringen Mengen (ca. 0.5 g) aus krystallisirter Schleimsäure abfiltrirten Mutterlauge wurde bei weiterem Eindampfen noch ein wenig Schleimsäure und unorganische Salze, sonst keine anderen Producte gewonnen. Bei weitem die Hauptmenge der Gährungsproducte bildete die amorphe, die Bacterien umhüllende, schleimige Masse, welche nun auf folgende Weise untersucht wurde. Die ausgewaschene und im Luftschrank getrocknete Substanz wurde fein gepulvert und mit Aether extrahirt. Der ätherische Auszug zeigt alle Reactionen des gewöhnlichen Fettes, jedoch war demselben in minimaler Menge Pyrrol, kenntlich durch seine Reactionen mit Salz- und Salpetersäure, beigemengt. Die Menge des ätherischen Extractes betrug in einem Falle 7.1 und im zweiten 6.63 Proc. von dem Gewicht der bei 110° getrockneten Substanz.

Die entfettete Substanz verbrannte auf dem Platinblech unter Verbreitung des Geruches nach verbranntem Horn. Mit Millon'schem Reagens gekocht färbte sie sich roth.

In verdünnter Natronlauge löste sie sich beim gelinden Erwärmen leicht auf. Essigsäure erzeugt in der Lösung einen Niederschlag, welcher sich auch in der Wärme nicht mehr löst. Auch die Salzsäure fällt aus alkalischer Lösung die Substanz aus; der entstandene Niederschlag aber wird fast vollständig durch überschüssige Salzsäure gelöst. In der Kälte wird durch verdünnte fixe Alkalien oder

durch deren Carbonate nur wenig von der Substanz gelöst. Ueberschüssige Essigsäure bringt in der gelben alkalischen Lösung keinen Niederschlag hervor.

Beim Erwärmen mit 20proc. Salzsäure wird eine dunkle braune Lösung erhalten, wobei nur ein geringer Rückstand, aus schwarzen, amorphen Flocken bestehend, hinterbleibt. In der salzsauren Lösung wird durch Alkohol kein Niederschlag erzeugt.

In kalter, concentrirter Schwefelsäure quillt die Substanz Anfangs und löst sich allmählich vollständig auf.

Die Analysen dieser Substanz ergaben folgende Resultate:

0.5154 g trockener Substanz ergaben 0.0111 g Asche entsprechend 0.21 Proc. Asche. 0.2998 g Substanz gaben 0.5795 g $CO_2$ entsprechend 52.72 Proc. C und 0.2066 g $H_2O$ entsprechend 7.65 Proc. H. 0.2413 g Substanz ergaben 0.465 g $CO_2$ entsprechend 52.55 Proc. C und 0.1643 g $H_2O$ entsprechend 7.56 Proc. H. Auf aschefreie Substanz berechnet 52.69 Proc. C und 7.58 Proc. H.

1. Stickstoffbestimmung. 0.2292 g Substanz ergaben 29.0 ccm N (bei 15.5° Temperatur und 705 mm Bst.) entsprechend 13.70 Proc. N. Auf aschefreie Substanz berechnet 13.73 Proc. N.

2. Stickstoffbestimmung. 0.2053 g Substanz ergaben 24.8 ccm N (bei 15° Temperatur und 714.5 mm Bst.) entsprechend 13.37 Proc. N. Aschefrei 13.39 Proc. N. 0.6491 g Substanz ergaben 0.0328 $BaSO_4$ entsprechend 0.69 Proc. S. Der aschefreien Substanz 0.6915 Proc. S.

Aus dem Mitgetheilten geht hervor, dass hier eine eigenthümliche, bisher unbekannte Art der Gährung vorliegt, die man noch am besten mit der schleimigen Gährung des Zuckers vergleichen könnte.

Ebenso wie bei 40° konnten aus schleimsaurem Ammonium durch Gährung bei gewöhnlicher Temperatur ausser Kohlensäure und Ammoniak keine gut charakterisirbaren Spaltungsproducte in irgend welcher nennbaren Menge erhalten werden. Dagegen war die Vermehrung der Spaltpilze eine ausserordentlich grosse, und diesem Umstande ist es jedenfalls zuzuschreiben, dass die ganze Flüssigkeit in eine schleimige, fadenziehende Masse verwandelt worden ist. Wie die mikroskopische Besichtigung dieser Masse, namentlich aber dessen mit der Essigsäure erhaltenen flockigen Niederschlages zeigte, ist dieser Schleim, in welchem die Bacterien eingebettet lagen, als ein Bestandtheil der Spaltpilze selbst aufzufassen. Nach der Analogie des Pflanzenschleimes könnte man annehmen, dass auch hier die die Bacterien umgebenden schleimigen Massen nichts anderes als ihre aufgequollene Zellmembran sind. Durch Erhitzen mit Säuren scheint dieser Schleim zu schrumpfen, wodurch die Bacterien in compactere Flocken zusammenfallen und sich durch die Filtration von ihrer Nährlösung trennen lassen. Durch die Einwirkung der Säure, Auswaschen mit Wasser und Behandeln des trockenen Rückstandes mit Aether wurden den Bacterien die unorganischen Salze, Extractivstoffe und das Fett entzogen. Die Elementaranalyse des Rückstandes dürfte demnach als die elementare Zusammensetzung der Bacterien selbst, d. h. ihres Eiweisses, Zellmembran + Spaltpilzschleim betrachtet werden.

In der Absicht nun, sowohl den Spaltpilzschleim als auch die Bacterien in

grösserer Menge zu erhalten, um so ihre Zusammensetzung genauer kennen zu lernen, wurde der Versuch von Neuem wiederholt. Es wurden 80 g schleimsaures Ammonium, 1.7 g saures phosphorsaures Kali, 0.8 g Chlorcalcium, 0.8 g schwefelsaure Magnesia, 0.8 g Chlornatrium mit 3 Liter destillirten Wassers übergossen, mit Bacterien aus einer faulenden Leimlösung versetzt und in flachen Gefässen bei Zimmertemperatur aufgestellt. Leider ist hier diese eigenthümliche schleimige Gährung nicht eingetreten. Die Nährlösung bedeckte sich mit einer Bacterienhaut, aber ähnlich wie bei dem Versuche bei 40° C. lebten die Spaltpilze vorwiegend auf der Oberfläche der Flüssigkeit. Als nach Verlauf von 14 Tagen keine Schleimbildung zu bemerken war, wurde die Flüssigkeit in einen Kolben gebracht und bei 40° der Gährung überlassen. Dabei wurde schwache Gasentwickelung bemerkt. Das entweichende Gas enthielt aber keinen Wasserstoff, sondern nur Kohlensäure. Nach weiteren 14 Tagen, da auch jetzt keine Schleimbildung eingetreten ist, wurde die Gährung unterbrochen, die Flüssigkeit in eine tubulirte Retorte gebracht, mit 50 g concentrirter Schwefelsäure versetzt und destillirt. Das erhaltene Destillat, 13015 ccm, reagirte sauer, und zwar brauchten 100 ccm davon 1.7 ccm titrirte Barytlösung, welche 0.349 g Baryum enthielten. Das Destillat wurde nun mit Natronlauge neutralisirt und zum Trocknen eingedampft. Das hinterbliebene Natronsalz, mit Schwefelsäure zersetzt, lieferte eine flüchtige Fettsäure, die den Geruch und die Löslichkeit der Buttersäure hatte. Die abgeschiedene Säure wurde durch Destillation gereinigt und in das Silbersalz übergeführt. 0.1283 g des Silbersalzes enthielten 0.070 g Silber, oder 54.6 Proc. Silber. Buttersaures Silber verlangt 54.4 Proc. Silber. Es ergiebt sich hieraus, dass die flüchtige Fettsäure fast ausschliesslich aus Buttersäure bestand. Wird der Säuregrad auf sie bezogen, so wurden im Ganzen etwa 6.0 g Buttersäure erhalten. Aus diesem Versuche geht nun hervor, dass ähnlich, wie schon Personne für den schleimsauren Kalk fand, auch das schleimsaure Ammonium Buttersäure, jedoch nur in einem späteren Stadium der Gährung und in relativ geringer Menge liefert.

Erneuerte Versuche, die schleimige Gährung durch Infection mit einigen Tropfen Pankreassaft in einer genau im Versuche 2 zusammengesetzten Lösung hervorzurufen, fielen negativ aus.

Schliesslich ist noch zu erwähnen, dass mit weinsaurem und zuckersaurem Ammonium auch Gährungsversuche bei 40° C. angestellt wurden. Die aus dem zuckersauren Salze erhaltenen Producte waren durchaus die gleichen wie aus dem schleimsauren Ammonium im ersten Versuche. Nur war die Menge des gebildeten Pyrrols noch grösser. Aus weinsaurem Ammonium wurde nach 33 Tagen nur kohlensaures Ammonium erhalten.

Diese Untersuchung wurde im Laboratorium des Professors Nencki ausgeführt.

# W JAKI SPOSÓB MOŻNA SIĘ OD ZARAZY UCHRONIĆ

przez

Prof. D-ra **M. Nenckiego**

dyrektora medyczno-chemicznego instytutu w Bernie.

Die hier aufgenommene Arbeit von † Professor M. v. Nencki wurde seiner Zeit in polnischer Sprache in der Zeitschrift „Gesundheit" (Nr. 4 vom 15. Februar 1879) (Zdrowie, Nr. 4, 15 Lutego 1879) in Warschau veröffentlicht. In Verehrung des Andenkens des hingeschiedenen Prof. Nencki lassen wir diese Arbeit so geben, wie sie ursprünglich polnisch erschienen ist, ohne dieselbe ins Deutsche zu übersetzen, da dieselbe jetzt nur historisch-biographisches Interesse haben kann.

H.

Wiadomości o epidemii, powstałej w gubernii astrachańskiej w Rosyi, usuwają wszelką wątpliwość, iż choroba ta należy do chorób zakaźnych. Z tego punktu widzenia pragnę rozpatrzyć ową zarazę, sądząc, że dla niejednego czytelnika ciekawem być może to, co nasze dotychczasowe badania wykryły o naturze materyi zarażającej i o sposobie, w jaki ona z zarażonego organizmu dostaje się do zdrowego.

Zpomiędzy chorób zakaźnych są niektóre, jak np. Typhus recurrens lub Antrax (karbunkuł), w których co do natury materyi zaraźliwej można powiedzieć, że lekarze wątpliwości nie mają. W obu tych chorobach znajdujemy w niezliczonej ilości we krwi organizmy pasożytne, które w normalnej krwi się nie znajdują. U zwierząt zapadłych na karbunkuł znajdują się stale we krwi mikroskopijne pręcikowate istoty, Bacillus anthracis nazwane, które botanicy zaliczają do grupy niższych grzybów (Schizomycetes). Historyę rozwoju Bacillus anthracis opisał niedawno Dr. Robert Koch w drugim tomie „Beiträge zur Biologie der Pflanzen" wydawanym przez prof. F. Cohna. Bacillus anthracis jest powinowatym jednemu z najpowszedniejszych fermentów gnilnych, zwanemu Bacillus subtilis.

We krwi chorych na Typhus recurrens znalazł przed siedmiu laty Dr. Obermeier z Berlina mikroskopijne spiralne istoty, które F. Cohn również zaliczył do schizomycetów (oddział Spiriobacteria) i na cześć odkrywcy nazwał Spirochaete Obermeieri.

Ze względu, że tak Bacillus anthracis[1]), jak i Spirochaete Obermeieri[2]) są anatomicznie i biologicznie powinowate organizmom, zwanym „fermentami ustrojowemi", które powodują rozkład ciał białkowych (gnicie) lub innych materyj organicznych, dalej ze względu na ich niezmierną ilość we krwi chorych, jestem zdania, że każdy lekarz lub naturalista, z biologiją fermentów ustrojowych

[1]) Grzybek kształtu maleńkiego prostego pręcika.

[2]) Grzybek kształtu maleńkiej spiralnej giętkiej niteczki. Podobne lecz niegiętkie spiralne niteczki noszą nazwę Spirillum.

obeznany, za rzecz nader prawdopodobną musi uważać, iż powodem tych dwu chorób zakaźnych t. j. gorączki powrotnej i karbunkułu, są owe „fermenty ustrojowo-chorobowe“, t. j. Spirochaete Obermeieri i Bacillus anthracis.

Wprowadzając tu pojęcia fermentów ustrojowo-chorobowych, widzę potrzebę dodania kilku słów objaśniających w tym względzie. Podział na fermenty ustrojowe i ustrojowo-chorobowe nie chcę by był w ten sposób rozumiany, jakoby w rzeczywistości te organizmy nic nie miały wspólnego nad to, że anatomicznie i biologicznie do jednego gatunku lub rodzaju należą i w takim stosunku do siebie się znajdują, jak np. różne gatunki grzybów jadalnych i jadowitych. Wiadomości nasze o tych mikroskopijnych istotach są zaszczupłe, by w tym względzie coś pewnego orzec. Prof. Naegeli z Monachjum wyraża się w tym względzie jak następuje: „ich habe seit 10 Jahren wohl Tausende von verschiedenen Spalthefeformen untersucht und konnte nicht behaupten, dass auch nur zur Trennung in zwei specifische Formen Nöthigung vorhanden sei“. Z drugiej strony wiem, że to, co u jednego zwierzęcia wywołuje chorobę zakaźną a nawet śmierć, u zwierzęcia innego gatunku tylko bardzo słabą reakcyę chorobową jest w stanie wywołać. Billroth i Hufschmidt (Untersuchungen über das Wundfieber w „Archiv für Chirurgie“ Langenbecka z roku 1865) zauważyli, że wstrzykując zgniłą krew w naczynia krwionośne psa, oprócz krótkotrwającej gorączki, żadnej choroby zakaźnej wywołać nie można. Doświadczenia te powtórzyłem z równym skutkiem. Psy, którym gnijącą krew w żyły lub pod skórę wstrzyknąłem, po 3—4 dniach były zupełnie zdrowe. Przeciwnie doktór Koch (Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten, Leipzig 1878) podaje, że zgniła krew, wstrzyknięta pod skórę myszy domowej, wywołuje śmiertelną septycemię. Organizmy ustrojowo-chorobowe we krwi myszy, na septycemię zdechłych, są nawiasem mówiąc najmniejsze z dotychczas znanych z grupy pręcikowatych: ich długość wynosi 0.8 mikrometra, a ich grubość ocenia Koch na 0.1 mikrometra. W zgniłej więc krwi (jakiegokolwiek zwierzęcia) znajdują się organizmy, które, dla myszy są fermentem ustrojowo-chorobowym, podczas gdy dla psa są nieszkodliwe. Czy jaka istota z grupy schizomycetów zachowa się zupełnie obojętnie, czy nabędzie znaczenia fermentu ustrojowego, lub też ustrojowo-chorobowego, będzie to wynik tysiąca może różnych warunków. Widzimy jednak, że indywidualność zwierzęcia, u którego ów schizomycet zostaje pasożytem jest także warunkiem i to wielkiej wagi.

Co do natury materyi zarażającej w innych chorobach zakaźnych, jak np. szkarlatynie, ospie, diphtheritis i t. p. to między patologami nie masz takiej zgody, jak co do febry powrotnej lub karbunkułu. Powodem tego jest, że w tych chorobach fermenty ustrojowo-chorobowe albo jeszcze zupełnie we krwi i tkankach nie zostały wykryte, albo też, jeżeli je wykryto, to należą do grupy kulistych schizomycetów (Coecobacteria) Cohna. Najmniejsze z tych organizmów nawet przy najsilniejszych powiększeniach mikroskopowych, są ledwie widzialne. Widzialne po większej części mają w średnicy tylko 0.5—1.0 mikrometra (mikrometr = 0.001 mm). Pewna, że tak powiem, konserwatywna część mikrografów, która to tylko za prawdę uważa, co pod mikroskopem jest jasne jak „na dłoni“, z pewną afektacyą podaje w powątpiewanie naturę tych fermentów ustrojowo-chorobowych kulistych, twierdząc,

iż tych mikrokoków od mikroskopijnych kropelek tłuszczu lub ziarnek „detritus" odróżnić niepodobna.

Powątpiewanie to jest po części historycznie uzasadnione, mianowicie ze względu, że przy łatwej mylności w tłomaczeniu mikroskopowego obrazu, dalej przy trudności w badaniu historyi rozwoju kulistego fermentu ustrojowego, wielkie pole otwiera się dla fantazyi badacza, co ze szkodą poszukiwań nad historyą schizomycetów wielokrotnie już miało miejsce. Co do mnie, to opierając się na moich pracach, nie wątpię, że przyczyną większej części chorób zakaźnych, a prawdopodobnie wszystkich, są owe schizomycety chorobowe. Kto tak, jak ja przez długie i staranne badania się przekona, że powinowate im schizomycety gnilne, które we wdychanem powietrzu jako pył, jako osad na naszych pokarmach roślinnych i zwierzęcych codziennie dostają się w znacznej ilości do naszych płuc i przewodu pokarmowego; kto tak, jak ja, pozna szybkość i energję, z jaką schizomycety gnilne rozkładają związki organiczne, mianowicie ciała białkowe, które, jak wiadomo, są materjałem budulcowym naszych tkanek; temu musi się wydać rzeczą bardzo prawdopodobną, że przyczyną chorób zakaźnych także schizomycety być muszą.

W rzeczywistości schizomycety te znajdują się prawie we wszystkich tkankach roślin i zwierząt. W organizmie ludzkim, głównie w gruczołach, jak wątrobie, trzustce i płucach i tam, gdzie warunki są dla ich rozwoju dogodne, wywołują rozkład związków organicznych (fermentacya i gnicie). W normalnym stanie organizmu ludzkiego żyją te fermenty ustrojowe tylko w dolnej części kiszki cienkiej, głównie zaś w kiszce grubej. Jakkolwiek zaś w trzustce, wątrobie i płucach normalnie się znajdują, to jednak procesy życiowe tkanek uniemożebniają życie fermentów ustrojowych. W jaki sposób żyjące tkanki ciała ludzkiego tak skuteczny opór fermentom ustrojowym stawiają, o tem niczego pewnego wyrzec nie mogę. Doświadczenia, które Dr. Kaufmann w tym kierunku w mojej pracowni wykonał, czynią prawdopodobnem przypuszczenie, iż oksyhemoglobina czerwonych ciałek krwi zabija fermenty ustrojowe. W zdrowej krwi zwierząt (zupełnie przeciwnie podaniu Billrotha) prawie nigdy, albo rzadko tylko, znajdowałem pojedyncze mikrokoki. Niech tylko procesy życiowe naszych tkanek ustaną, jak to często w stanach chorobowych naszego organizmu uważać można, natychmiast fermenty ustrojowe żyć zaczynają oznajmiając życie swoje przez wytwarzanie z białka tkanek im właściwych produktów, jak lotne kwasy tłuszczowe, amoniak, indol, fenol. Każdemu lekarzowi znane są smrodliwe eksudaty i abscesy w takich miejscach naszego ciała powstałe, gdzie o przystępie powietrza, a z nim fermentów ustrojowych, ani mowy być nie może. Z ustaniem procesów życiowych naszych tkanek i krążenia krwi, t. j. ze śmiercią naszego ciała, rozpoczyna się w niem nowe życie — życie fermentów gnilnych. Już w kilka minut po śmierci królika można znaleść, że zawarty w wątrobie glikogien zaczyna znikać, a zamiast niego znajduje się cukier gronowy, który prędko w kwas przechodzi. Pośmiertna przemiana glikogienu na cukier jest, mojem zdaniem, procesem, wywołanym przez schizomycety w wątrobie za życia się znajdujące.

Zdaje się jednak, że żyjący organizm nie jest w stanie wszystkim gatunkom schizomycetów stawiać tego samego oporu, jaki stawia ciągle schizomycetom

gnilnym. W tym razie schizomycet przybiera charakter fermentu ustrojowo-chorobowego. Fermentem ustrojowo-chorobowym dla człowieka jest Spirochaete Obermeieri lub Bacillus Anthracis. — Wyżej zresztą nadmieniłem, że jeden i ten sam schizomycet dla jednego zwierzęcia może być zupełnie obojętny, t. j. w jego ciele nie dojść do rozwoju i życia, albo tylko słabą reakcyę chorobową wywołać, podczas, gdy dla innego zwierzęcia będzie fermentem ustrojowo-chorobowym par excellence. Przytoczyłem w tym względzie, jako przykład, pręciki Kocha, wywołujące septycemię u myszy domowej. Od jak drobnych napozór okoliczności zależy, czy jaki schizomycet nabierze charakteru fermentu ustrojowo-chorobowego lub nie, niech dowiodą następujące doświadczenia Pasteura. Bacillus anthracis, który zaszczepiony u wielu zwierząt wywołuje karbunkuł, jest dla kury domowej zupełnie nieszkodliwy. Powodem tego jest, jak twierdzi Pasteur, cokolwiek wyższa temperatura krwi tego ptaka. Jeżeli jednak, przy innych warunkach równych, kurę zanurzymy w zimnej wodzie i wtedy jej wstrzykniemy pod skórę płyn, w którym Bacillus anthracis się znajduje, to niezawodnie w ciągu 48 godzin kura na karbunkuł zdechnie.

Ze wszystkiego, co dotychczas napisałem, czytelnik zapewne sam dojdzie do wniosku, że przyczyną chorób zakaźnych są owe schizomycety. Aby mu jednak dowieść, iż tak jest, a nie inaczej, poddaję pod jego rozwagę następujące rozumowanie. Wychodząc z zasady „ex nihilo nihil" musimy przyjąć, że zdrowy człowiek, obcując z chorym na zakaźną chorobę, a następnie zachorowawszy sam na tę samą chorobę, jakieś coś od chorego otrzymać musiał. To coś musi być ciałem chemicznem albo ciałem organizowanem „tertium non datur". W pierwszym razie coś mogłoby być albo gazem, lub związkiem stałym. Że materyą zarażającą nie mogą być gazy lub ciała chemiczne z parami wody lotne, wynika to z rozwagi, iż gdyby tak było, musiałoby to ciało podług praw dyfuzyi w krótkim czasie w powietrzu aż do nieskończenie małej ilości się rozdzielić, a z drugiej strony materya zarażająca, wydzielona przez chorego, musiałaby wszystkich w najbliższem otoczeniu chorego się znajdujących zarazić, — co w wielu chorobach zaraźliwych nie ma miejsca.

Żeby materya zarażająca była ciałem chemicznem stałem, należy wątpić z tego względu, ponieważ wiemy z doświadczeń, że materyę zarażającą można przenieść w tak małej ilości na zdrowego osobnika, że może ona wynosić zaledwie miljonową cząstkę wagi najsilniejszych trucizn, jakie bez szkody organizm człowieka znosi, a wszelkie poszukiwania płynów zgniłych dotychczas nie wykryły w nich związku chemicznego, któryby co do szkodliwości mógł się równać choćby tylko ze słabszemi ze znanych trucizn.

Jeżeli poddamy zgniłe wodne roztwory białka dystylacyi, to z parami wody ulatniają się i specyficzne produkty gnicia jak fenol, indol, amoniak, w nader małej ilości organiczne amoniaki i lotne kwasy tłuszczowe. Żadna z tych substancyj nie ma cechy zaraźliwej materyi i dopiero w większych ilościach przechodzących wagę 0.5 grama, niektóre z nich dla organizmu ludzkiego są trucizną. Natomiast w dystylatach nie znajdujemy ani śladu ustrojowych fermentów, które w poddanym dystylacyi zgniłym płynie w niezliczonej ilości się znajdują. Schizomycety zatem z parami się nie ulatniają.

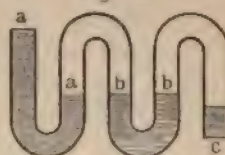
Jeżeli więc materyą zaraźliwą tylko ciała organizowane być mogą, to nic lepiej

nie odpowiada pojęciom, nabytym z doświadczeń o naturze materyi zaraźliwej, jak schizomycety, ze względu na ich fizyczne i biologiczne właściwości. Naegeli oblicza, że w stanie suchym 50 do 30 miljonów osobników schizomycetów ważą razem około 0,001 grama. Maleńkie i lekkie te istoty mogą być w stanie suchym przez prądy powietrza na wielkie odległości przeniesione i w ten sposób na odległych punktach może powstać jedna i ta sama epidemia.

Przyszedłszy do przekonania, że materyą zaraźliwą wszystkich chorób zakaźnych mogą być tylko schizomycety, a z drugiej strony, badając warunki życia schizomycetów nieszkodliwych, gnilnych, osiągniemy środki, ochraniające nas i od schizomycetów gnilnych-chorobowych t. j. od materyi zarażającej.

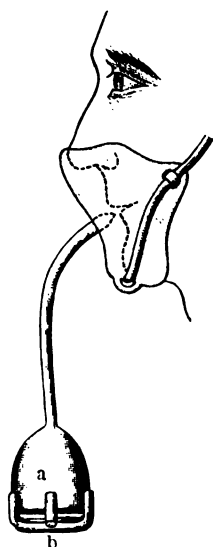
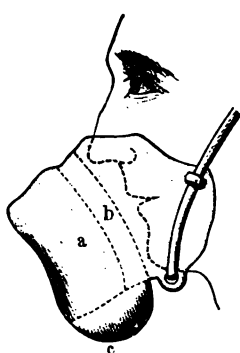
Jest bowiem rzeczą pewną, że wszystkie schizomycety podlegają tym samym ogólnym warunkom biologicznym. Wszystko to, co niszczy schizomycety gnilne, niszczy i schizomycety chorobowe.

Wyżej nadmieniłem, że wszystkie schizomycety gnilne, w wodzie zawieszone, z parami się nie ulatniają. Bardzo proste doświadczenie Naegelego pokazuje, że i w zwyczajnej temperaturze w wodzie zawieszone schizomycety przez prądy powietrza nie zostają unoszone. Rurka szklana zgięta w sposób, jak dołączona figura pokazuje, zostaje od *a* do *a'* napełniona gruboziarnistym piaskiem; w zgięciu *b b'* znajduje się płyn łatwo ulegający gniciu. Przyrząd tak przygotowany zostaje naprzód w gorącej parze wygotowany, aby zniszczyć przypadkowo znajdujące się na jego ścianach schizomycety. Następnie koniec *c* zostaje lekko zatkany watą, a piasek *a—a'* oblany jakimkolwiek gnijącym płynem. Jeżeli teraz będziemy przez rurkę ssać powietrze w kierunku od *a* do *c*, to i po miesięcznem nawet przeciąganiu powietrza płyn, znajdujący się w zgięciu *b b'*, się nie zmieni t. j. z gnijącej masy w *a—a'* żaden schizomycet nie zostanie przez prąd powietrza do *b b'* przeniesiony. Każdy zatem schizomycet chorobowy, dopóki się znajduje w wodzie, jest nieszkodliwy o tyle, o ile możemy być pewni, iż z wody we wdychane przez nas powietrze nie przejdzie. Dopiero po wyschnięciu wody, jako osad pozostałe schizomycety, przechodzą w stan suchy i teraz stają się dla nas niebezpieczne z powodu, że przez prądy powietrza zostają unoszone i napełniają wdychane przez nas powietrze. Znaną jest rzeczą, iż w tych chorobach zakaźnych, w których materya zarażająca nie z chorego na zdrowego, ale z ziemi na zdrowe indywiduum przechodzi, jak np. w zimnicy (malaria, febris intermittens) tam, gdzie choroba jest endemiczną, jako to u afrykańskich szczepów około źródeł Nilu mieszkających ma miejsce, zimnice najsilniej panują nie w dżdżystej porze roku, ale po niej następującej suchej (patrz Schweinfurth, „Im Herzen von Afrika", Lipsk, 1874 r.). Do rozwoju i życia schizomycetów konieczną jest woda. Nie wątpię, iż ów schizomycet, który u ludzi sprawia zimnicę, głównie w porze dżdżystej na mokrym gruncie się rozwija i mnoży, lecz dopiero w suchej porze roku staje się on człowiekowi szkodliwym, gdyż dopiero teraz wysycha i jako pył powietrzny dostaje się do naszych płuc. Z tego to powodu po większej części pory roku naprzemian wilgotne i suche najbardziej sprzyjają rozwojowi chorób epidemicznych.

Fig. 10.

Naegeli jest zdania, że wydychane przez człowieka powietrze nigdy schizomycetów zawierać nie może z powodu, iż błony śluzowe, przez które to powietrze przechodzi, są wilgotne. Natomiast przy kaszlu, mowie, śmiechu i t. p. mogą wyrzucane przez chorego kropelki śliny lub śluzu zawierać schizomycety, które osadzają się na sukniach, bieliźnie, naczyniach i t. d. a po wyschnięciu, przechodzą w powietrze jako pył, a następnie do płuc i tkanek zdrowego człowieka.

Jeżeli więc jest rzeczą pewną, że materyą zarażającą mogą być tylko schizomycety, a z drugiej strony, że schizomycety w wodzie zanurzone, przez prądy powietrza nie bywają unoszone, to dwa te fakty podają nam sposób, w jaki można się od materyi zarażającej uchronić.

Z codziennego doświadczenia wiemy, że naskórek nasz dla materyi zarażającej jest nieprzenikliwy. Aby zdrowemu indywiduum materyę zarażającą, w jakim płynie zawartą zaszczepić, należy ją udzielić albo limfie (przez nastrzyknięcie podskórne) albo krwi. Jedyną drogą, jaką materya zarażająca wprost do naszego organizmu dostać się może, są otwory błon śluzowych, a przedewszystkiem otwór nosowy i usta, przez które to otwory wdychane powietrze przechodzi.

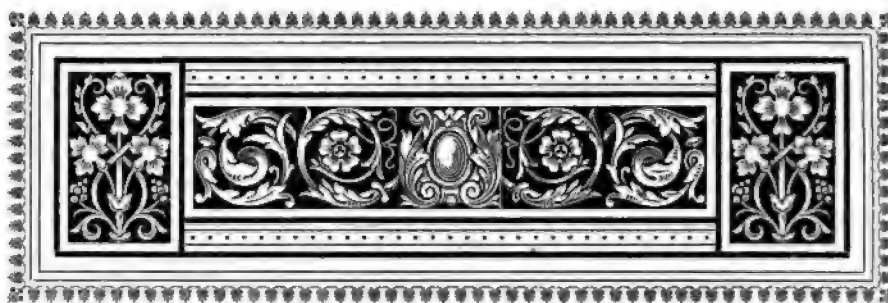
Możemy więc być wtedy bezpieczni od wszelkiej materyi zarażającej, kiedy wdychane przez nas powietrze będzie przechodziło naprzód przez wodę lub jakąkolwiek mokrą porowatą substancyę. Zawarte w powietrzu schizomycety zostaną w tej mokrej substancyi zatrzymane, a jeżeli nadto będzie ona zawierała odpowiedni przeciwgnilny środek, to współcześnie szkodliwe chorobowe schizomycety mogą być zniszczone.

Aby się przekonać, czy teoretyczny ten postulat da się praktycznie przeprowadzić, a mianowicie, czy oddychanie nie będzie zatrudne, sporządziłem przyrząd, którego kontury dołączony rysunek przedstawia (fig. 11). Nos i usta są zakryte przez kauczukową maskę ściśle przylegającą. Odpowiednio otworowi ustnemu jest otwór w masce, przez który przechodzi rura kauczukowa o średnicy 3 centymetrów i która się kończy otworem lejkowatym *a*. W tym gumowym lejku *a* znajduje się gąbka, zmoczona 5 procentowym roztworem kwasu siarczanego. U spodu lejka znajduje się talerzyk *b* z twardej gutaperki, służący za odbiornik dla ściekającej z gąbki wody. Oddychanie jest tylko możebne przez otwór ustny. Powietrze wdychane przechodzi przez zmoczoną gąbkę, a wydychane idzie napowrót tą samą drogą. Próby wykonane z tym aparatem przekonały mnie, że byle tylko średnica kauczukowej rurki 2—3 centymetry wynosiła, oddychanie przez wilgotną gąbkę wcale nie jest trudne. Opierając się na tem doświadczeniu sądzę, że dla

oczyszczenia wdychanego powietrza od schizomycetów następująca forma respiratora dałaby się praktycznie zastosować (patrz fig. 12). Nos i usta są gumową maską szczelnie zakryte. W przedziale *a* znajduje się gąbka, wata szklana, lub jakakolwiek inna porowata substancya w nielotnym kwasie lub innym przeciwgnilnym roztworze zmoczona. By zetknięciu ust z kwaśnym płynem przeszkodzić, znajduje się między gąbką a otworem ustnym przestrzeń *b*, której ściany są z siatki gumowej. Nakoniec *c* jest odbiornikiem dla ściekającego płynu. Zresztą rysunek jest bez objaśnień zrozumiały. Że we wdychanem powietrzu zawarte schizomycety przez gąbkę zostają zatrzymane, o tem się przez osobne doświadczenia przekonałem.

Aby zniszczyć schizomycety, moczę gąbkę w roztworach kwasów mineralnych. Z doświadczenia przekonałem się bowiem, że wodne roztwory kwasu solnego, fosfornego i siarczanego, już pólprocentowe, niszczą schizomycety gnilne, tembardziej zatem należy się spodziewać, że przez roztwory 3—5 procentowe i schizomycety chorobowe z pewnością zniszczone zostaną.

Z góry jestem przekonany, że w ręku zręcznego fabrykanta wyrobów chirurgicznych przyrząd przezemnie podany, w niejednym punkcie może być ulepszony. Chcę tylko podać ideę, w jaki sposób ze względów teoretycznych od zarazy uchronić się można.

Mniej grozi niebezpieczeństwo zarażenia przez tkankę łączną (conjunctiva) oka, ale i temu możnaby zapobiedz zapomocą okularów ściśle do oka przylegających.

Niemożna się spodziewać, żeby cała ludność w zarażonej okolicy podobne respiratory nosiła, które w każdym razie uciążliwe być muszą. Polecając je, mam tu głównie na względzie osoby ze służby zdrowia, które zmuszone są w lokalach zarażonych przebywać, aby leczyć, chorych obsługiwać, zmarłych wynosić i t. p. Posługi te trwają kilka godzin i na taki przeciąg czasu, żeby od zarazy się uchronić, chętnie zapewne każdy respiratora używać będzie. Należy przytem uwzględnić, iż przy takich posługach ślina, śluz lub inne wydzieliny chorego na sukni, włosach, naskórku i t. d. uczepić się mogą i w ten sposób materya zaraźliwa na inne miejsce przeniesiona zostanie. Nie wystarcza więc respirator. Po każdym pobycie w miejscu zarażonem lub zetknięciu się z chorym, należałoby suknie i części ciała na zarażenie wystawione poddać gruntownej dezynfekcyi.

# 1880

## Ueber die Oxydation der aromatischen Kohlenwasserstoffe im Thierkörper

von

**M. Nencki** und **P. Giacosa.**

*Zeitschr. f. physiol. Chem. 4, 325. — Archivio per scienze mediche. Vol. 4, No. 14.*

Die Ersten, welche das Verhalten der aromatischen Kohlenwasserstoffe im Organismus untersuchten, waren Schultzen und Naunyn[1]). Ihre Versuche erstreckten sich allerdings nur auf die drei Anfangsglieder der Reihe, nämlich: Das Benzol, das Toluol und das Xylol. Sie fanden, dass diese Kohlenwasserstoffe im Thierkörper oxydirt werden und zwar wurde das Benzol zu Phenol, das Toluol zu Benzoësäure und das Xylol zu Toluylsäure umgewandelt. Während die beiden letzten Säuren, wie schon Schultzen und Naunyn fanden, in Form ihrer Glycocollpaarlinge im Harn auftreten, zeigte später Baumann[2]), dass das durch Oxydation des Benzols im Organismus entstandene Phenol nicht als solches, sondern in Form einer Aetherschwefelsäure, $C_6H_5O—SO_3H$, ausgeschieden wird. Ferner haben Baumann und Herter[3]) gefunden, dass eine grosse Anzahl aromatischer Substanzen im Thierkörper zu ihren Hydroxylderivaten oxydirt und als Aetherschwefelsäure ausgeschieden werden.

Auch das dem Organismus zugeführte Phenol unterliegt zum Theil noch einer weiteren Oxydation, indem es in Hydrochinon und Brenzcatechin umgewandelt wird.

Weitere im hiesigen Laboratorium mit Camphercymol und Mesitylen angestellte Versuche zeigten, dass das Cymol im Thierkörper zu Cuminsäure und das

[1]) Reichert's und Du Bois-Reymond's Archiv v. J. 1867.

[2]) Pflüger's Archiv **30**, 285.

[3]) Zeitschrift f. physiol. Chemie **1**, 244.

zu Mesitylensäure oxydirt werden. Die bisherigen Versuche ergeben
›lgende Reihe.

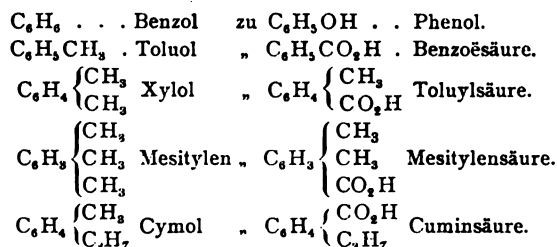
:d im Thierkörper oxydirt:

$C_6H_6$ . . . Benzol zu $C_6H_5OH$ . . Phenol.

$C_6H_5CH_3$ . Toluol „ $C_6H_5CO_2H$ . Benzoësäure.

$C_6H_4\begin{cases}CH_3\\CH_3\end{cases}$ Xylol „ $C_6H_4\begin{cases}CH_3\\CO_2H\end{cases}$ Toluylsäure.

$C_6H_3\begin{cases}CH_3\\CH_3\\CH_3\end{cases}$ Mesitylen „ $C_6H_3\begin{cases}CH_3\\CH_3\\CO_2H\end{cases}$ Mesitylensäure.

$C_6H_4\begin{cases}CH_3\\C_3H_7\end{cases}$ Cymol „ $C_6H_4\begin{cases}CO_2H\\C_3H_7\end{cases}$ Cuminsäure.

us dieser Zusammenstellung ersichtlich, wird im Organismus stets nur eine
des Kohlenwasserstoffs zu Carboxyl oxydirt, und zwar nur das Methyl,
:m Versuche mit Cymol hervorgeht. Da ferner bis jetzt nur Versuche
ı Kohlenwasserstoffen ausgeführt wurden, welche Methyl als Seitenkette
o war es wünschenswerth, das Verhalten aromatischer Kohlenwasserstoffe
stoffreicheren Seitenketten kennen zu lernen. Die ersten hierauf bezüg-
uche mit Aethylbenzol hat Herr Dr. Genhart aus Sempach im hiesigen
ım unternommen. Da er jedoch an der Vollendung seiner Arbeit ver-
r, so wurde sie von uns fortgesetzt. In Folgendem wollen wir über die
ıaltenen Resultate berichten.

itterungsversuche wurden zum kleineren Theile an Menschen, zum grössten
:inem und demselben Hunde angestellt. Die Nahrung dieses 14 kg
Hundes bestand aus einer täglichen Ration von 250 g Fleisch, 500 g
›eliebiger Menge Wasser. Der Hund war so dressirt, dass er regelmässig
iglich, Morgens und Abends, seinen Harn in ein untergehaltenes Gefäss
Alle die Kohlenwasserstoffe, mit denen experimentirt wurde, wurden in
zu 3 bis 4 g pro die von dem Hunde gut ertragen. Sie wurden in
›seln eingegeben; grössere Dosen — wir haben manchmal 6 bis 10 g pro
:icht — verursachten Erbrechen und Durchfälle. In Versuchen, wo es
ıntitative Bestimmungen ankam, haben wir uns daher auf die Dose von
ie beschränkt.

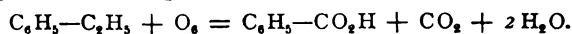
ylbenzol. Das von Kahlbaum in Berlin bezogene Aethylbenzol wurde
ionirte Destillation gereinigt und der bei 134° siedende Kohlenwasserstoff
: in Dosen von 3 bis 4 g pro die eingegeben. Der darauf erhaltene Harn
dem Wasserbade verdunstet, der syrupöse Rückstand in der Kälte mit
Schwefelsäure angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Der abge-
ıerische Auszug hinterliess nach dem Abdestilliren des Aethers einen
:hen Rückstand, der unter dem Mikroskope die Krystallformen der
: zeigte. Die Krystalle wurden aus heissem Wasser unter Zusatz von
umkrystallisirt und durch nochmalige Krystallisation aus wenig heissem
ıneeweiss erhalten. Die Elementaranalysen der über Schwefelsäure ge-
Substanz zeigten, dass sie Hippursäure war.

0.2228 g gaben 0.4922 g $CO_2$ entsprechend 0.1342 C oder 60.33 Proc. C und 0.1098 g $H_2O$ entsprechend 0.0122 H oder 5.47 Proc. H.

0.2163 g Substanz gaben ferner 15 ccm N gas bei 10.5° C. Temperatur und 724 mm Barometerstand entsprechend 7.88 Proc. N; also:

| Gefunden: | Berechnet aus Hippursäure: |
|---|---|
| C = 60.33 | C = 60.32 |
| H = 5.47 | H = 5.04 |
| N = 7.88 | N = 7.84 |
| O = 26.32 | O = 26.80 |

Es ergiebt sich hieraus, dass das an dem Benzol haftende Aethyl gänzlich zu Kohlensäure oxydirt wird, entsprechend der Gleichung:

$$C_6H_5—C_2H_5 + O_6 = C_6H_5—CO_2H + CO_2 + 2 H_2O.$$

Es ist ferner als sicher anzunehmen, dass der am Benzolkern haftende Kohlenstoff des Aethyls zuerst angegriffen wird; anderenfalls müsste als Zwischenstufe die Phenylessigsäure = $C_6H_5—CH_2—CO_2H$ entstehen.

Aus den Versuchen von Salkowski[1]) aber ist es bekannt, dass die dem Organismus zugeführte Phenylessigsäure nicht weiter oxydirt wird, sondern mit Glycocoll gepaart als die Phenacetursäure $C_6H_5—CH_2—CO—NH—CH_2—CO_2H$ im Harne erscheint. Wahrscheinlich wird im Organismus das Aethylbenzol in erster Instanz in Acetophenon und sodann unter Oxydation des Methyls in Benzoësäure und Kohlensäure umgewandelt.

Vor Kurzem zeigten Friedel und Balsohn[2]), dass durch vorsichtige Oxydation des Aethylbenzols mit Chromsäure in der That Acetophenon entsteht. Dass Acetophenon im Thierkörper zu Benzoësäure oxydirt werde, wurde von einem von uns[3]) durch directen Versuch erwiesen.

Die Menge der im Harne nach Fütterung mit Aethylbenzol auftretenden Hippursäure war stets eine geringe. Bei Dosen von 4 bis 5 g pro die wurde höchstens etwa der sechste Theil der theoretisch zu erwartenden Menge der Hippursäure erhalten. Auch bei Menschen, wo ebenfalls Aethylbenzol zu Benzoësäure oxydirt wird, bleibt die Menge der aus dem Harne erhaltenen Hippursäure weit hinter der theoretischen Berechnung zurück. Die Versuche Baumann's zeigten, dass eine Reihe aromatischer Substanzen im Organismus zu ihren Hydroxylderivaten oxydirt werden, welche dann als Aetherschwefelsäure im Harne erscheinen; es wurde daher vor und nach der Fütterung mit Aethylbenzol die Schwefelsäure der Salze und die durch Kochen mit Mineralsäuren freiwerdende Schwefelsäure bestimmt. Die Bestimmungen ergaben, dass nach Einnahme von Aethylbenzol die Menge der gepaarten Schwefelsäuren durchaus nicht zunimmt. So wurden in einem Versuche folgende Zahlen erhalten:

24 stündige Harnmenge eines Mannes vor der Einnahme von Aethylbenzol = 2000 ccm.

---

[1]) Ber. **2**, 654.

[2]) Bulletin de la Soc. chim. **32**, 615.

[3]) Journ. f. prakt. Chem. 1878, **18**, 288. — Dieser Band S. 415.

$SO_3$ der Salze in 24 Stunden $A = 2.026$ g,
$SO_3$ gepaart in 24 Stunden $B = 0.125$ g,

$$\frac{A}{B} = 16.3.$$

24 stündige Harnmenge des gleichen Mannes, nach dem Genuss von 4 g Aethylbenzol = 3200 ccm.

$SO_3$ der Salze = 3.568 g in 24 Stunden
$SO_3$ gepaart = 0.239 g in 24 Stunden

$$\frac{A}{B} = 15.$$

Das gleiche Resultat wurde auch mit Hunden erhalten.

Jedenfalls rührt die nach Verabreichung des Aethylbenzols im Harne auftretende Hippursäure von dem ersteren her. Der Harn des Versuchshundes enthielt, wie wir uns im Verlaufe der Versuche öfters überzeugen konnten, normalerweise keine wägbaren Mengen Hippursäure.

Normales Propylbenzol = $C_6H_5—CH_2—CH_2—CH_3$. Den zu den Fütterungsversuchen verwendeten Kohlenwasserstoff haben wir nach der Fittig'schen [1]) Vorschrift durch Einwirkung von Natrium auf Brombenzol und normales Propylbromid bereitet und in Dosen von 4 g pro die dem Hunde verabreicht. Aus dem genau wie nach der Fütterung mit Aethylbenzol verarbeiteten Harne wurde Hippursäure und zwar in gleicher Menge wie nach Aethylbenzol erhalten. Die ähnlich wie im vorhergehenden Versuche gereinigte Säure ergab bei der Elementaranalyse folgende Zahlen:

0.2598 g Substanz gaben 0.5758 $CO_2$ und 0.1301 $H_2O$.

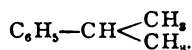
| Gefunden: | Berechnet: |
|---|---|
| C = 60.4 Proc. | C = 60.62 Proc. |
| H = 5.5 „ | H = 5.04 „ |

0.1920 g Substanz gaben 13.00 ccm N bei 723 mm Baromst. und 11° C.

N gefunden 7.68, berechnet 7.84.

Entsprechend dem Aethylbenzol ist also das normale Propylbenzol im Organismus zunächst in Benzoësäure und Essigsäure durch Oxydation gespalten, was aus dem Umstande hervorgeht, dass ausser Benzoësäure keine höhere, ihr homologe Säure entstanden ist. Auch Fittig [2]) erhielt Benzoësäure durch Oxydation des normalen Propylbenzols mittelst saurem chromsaurem Kalium und verdünnter Schwefelsäure.

Isopropylbenzol (Cumol aus Cuminsäure)

$$C_6H_5—CH<\begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}.$$

Wir haben diesen Kohlenwasserstoff ähnlich wie Jacobsen [3]) durch Erhitzen eines innigen Gemenges von je 15 g reiner Cuminsäure mit 50 g gebranntem Kalk

[1]) Ann. Chem. Pharm. **149**, 324.
[2]) Ann. Chem. Pharm. **149**, 325.
[3]) Ber. **12**, 429.

und 50 g Eisenfeile dargestellt. Das wiederholt über Natrium fractionirte Destillat lieferte uns ebenfalls eine sehr gute Ausbeute an reinem, bei 150 bis 151° bei 720 mm Baromst. siedendem Cumol. Obgleich Abel[1]) durch Oxydation des Cumols Benzoësäure erhielt, so erwarteten wir doch, dass wegen der Structur der Seitenkette im Cumol vielleicht nicht Benzoësäure, sondern durch Oxydation eines Methyls der Seitenkette Hydroatropasäure, $C_6H_5-CH<{COOH \atop CH_3}$, entstehen werde.

Der Versuch zeigte, dass weder die eine noch die andere Säure aus Cumol im Organismus gebildet wird. Wir haben auch nach Verarbeitung grösserer Mengen des Harnes, nachdem der Hund innerhalb 4 Tagen 15 g Cumol erhielt, keine wägbare Menge Hippursäure oder einer anderen aromatischen Säure erhalten können. Als wir dagegen den Harn mit verdünnter Schwefel- oder Salzsäure einige Minuten zum Sieden erhitzten, wurde beim Schütteln desselben mit Aether von dem letzteren eine Substanz aufgenommen, welche nach Verdunsten des Aethers als eine harzige, in Wasser wenig lösliche Materie hinterblieb. Es gelang uns aber nicht, diesen harzigen Körper krystallinisch zu erhalten, oder in irgend eine analylisirbare Form zu bringen. Dieses unerwartete Resultat brachte uns auf die Vermuthung, dass das Isopropylbenzol nicht zu einer Carbonsäure, sondern ähnlich wie das Benzol zu einem Phenol im Organismus oxydirt werde. Nach der Analogie des Phenols war ferner zu erwarten, dass auch das Oxycumol als Aetherschwefelsäure im Harn auftreten werde. Wir haben daher den Fütterungsversuch mit Cumol wiederholt und durch die bedeutend vermehrte Ausscheidung der gepaarten Schwefelsäure unsere Vermuthung bestätigt gefunden. Die folgende Tabelle enthält die erhaltenen Zahlen:

1. Tag. Harnmenge = 240 ccm.

| | | | |
|---|---|---|---|
| $A = SO_4H_2$ der Salze 0.766 g | $B = SO_4H_2$ gepaart 0.0936 g | $A + B = 0.8596$ g | $A : B = 8.1$ |

2. Tag. Harnmenge = 218 ccm.

| | | | |
|---|---|---|---|
| $A = SO_4H_2$ der Salze 0.5014 g | $B = SO_4H_2$ gepaart 0.2191 g | $A + B = 0.7205$ g | $A : B = 2.28$ (Eing. v. 3 g Cumol) |

3. Tag. Harnmenge = 270 ccm.

| | | | |
|---|---|---|---|
| $A = 0.5686$ g | $B = 0.1836$ g | $A + B = 0.7522$ g | $A : B = 3.1$ |

4. Tag. Harnmenge = 284 ccm.

| | | | |
|---|---|---|---|
| $A = 0.7446$ g | $B = 0.0943$ g | $A + B = 0.8389$ g | $A : B = 7.89$ |

Aus diesen Zahlen ist ersichtlich, dass nur ein geringer Theil des Isopropylbenzols in die Oxyverbindung übergeführt werde; obgleich bei der gleichmässigen Ernährung des Hundes die Zunahme der gepaarten Schwefelsäure zweifellos die Folge des verabreichten Cumols ist. Das entstandene Oxycumol scheint mit Wasserdämpfen nicht flüchtig zu sein, denn wir erhielten bei der Destillation des Harnes mit verdünnter Schwefelsäure und Neutralisation des Destillates mit einigen Tropfen

[1]) Ann. Chem. Pharm. **63**, 308.

lilauge nach dem Eindampfen desselben keinen wägbaren Rückstand. Hingegen terblieb eine harzige Masse, wie wir sie sonst bei der gleichen Behandlung des ndeharns nicht beobachtet haben. Eine auffallende Erscheinung, die jedoch, wie · später bei der Fütterung des Hundes mit anderen Kohlenwasserstoffen und nentlich mit Benzol gesehen haben, constant blieb, ist die lang dauernde — bis n dritten Tage — Ausscheidung der vermehrten gepaarten Schwefelsäure.

Butylbenzole. Herr Prof. Radziszewski in Lemberg, der Entdecker der meren Butylbenzole, hatte die Freundlichkeit, uns seine Präparate in analytisch iem Zustande zur Verfügung zu stellen. Wir konnten daher unsere Versuche tellen:

1. Mit normalem Butylbenzol, erhalten durch Einwirkung von Natrium auf Gemisch von $C_6H_5—CH_2—Br$ und normalem $C_3H_7Br$, 2. mit dem α-Isobutyl-zol $= C_6H_5—CH_2—CH(CH_3)_2$, erhalten durch Einwirkung von Natrium $C_6H_5—Br$ und $\genfrac{}{}{0pt}{}{CH_3}{CH_3}\!>\!CH—CH_2Br$, und 3. mit dem β-Isobutylbenzol $=$ $H_5–CH\!<\!\genfrac{}{}{0pt}{}{CH_3}{C_2H_5}$, erhalten durch Einwirkung von $\genfrac{}{}{0pt}{}{C_2H_5}{C_2H_5}\!>\!Zn$ auf $C_6H_5–CHBr–CH_3$.
r können hier vorausschicken, dass keiner von diesen drei Kohlenwasserstoffen Organismus zu Hippursäure oxydirt wird; dagegen haben wir gefunden, dass die den Isobutylbenzole vermehrte Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren bewirken, ss sie also mit ziemlicher Sicherheit als Oxybutylbenzole ausgeschieden werden. ir haben den Versuch mit normalem Butylbenzol gleich nach den Fütterungs-rsuchen mit Aethyl- und normalem Propylbenzol angestellt. In der Erwartung, ss das normale Butylbenzol ebenfalls Hippursäure geben werde, haben wir leider Bestimmung der Schwefelsäure im Harne nach Phenylbutyl unterlassen. Erst chdem wir bei wiederholter Fütterung des Hundes mit (3 g pro die) normalem ıtylbenzol weder Hippursäure, noch irgend eine aromatische Säure aus dem Harne hielten, wurde es uns wahrscheinlich, dass dieser Kohlenwasserstoff nicht gleich ie dessen kohlenstoffärmere Homologe zu Benzoësäure, sondern zu einem Oxy-utylbenzol oxydirt werde. Leider reichte unser Vorrath an normalem Butylbenzol icht mehr aus, um den Fütterungsversuch zu wiederholen und auch die gepaarten chwefelsäuren im Harne zu bestimmen. Nachdem wir aber gesehen, dass auch ach Fütterung mit α- und β-Butylbenzol keine Hippursäure im Harne auftritt, aben wir die Fütterungsversuche mit den beiden letzten Kohlenwasserstoffen wieder-olt und gleichzeitig die Schwefelsäure der Salze, sowie auch in gepaarter Form stimmt. Die erhaltenen Zahlen sind nun folgende:

Versuch mit α-Isobutylbenzol $= C_6H_5—CH_2—CH = (CH_3)_2$.

1. Tag vor der Fütterung, Harnmenge $= 220$ ccm.

| $A = 0.857$ g | $B = 0.117$ g | $A + B = 0.974$ g | $A : B = 7.3$ |
|---|---|---|---|

2. Tag, Eingabe von 2.5 g α-Isobutylbenzol, Harnmenge $= 204$ ccm.

| $A = 0.543$ g | $B = 0.1106$ g | $A + B = 0.6536$ g | $A : B = 4.9$ |
|---|---|---|---|

Durch Destillation dieses Harnes wurden in geringer Menge farblose Oeltropfen ılten, die durch Zusatz von Bromwasser sich gelb färbten und am Boden des

Reagenzgläschens sich absetzten. Auch nach mehrtägigem Stehen krystallisirten diese gelben Oeltröpfchen nicht.

3. Tag. Harnmenge = 178 ccm.
$A = 0.4047$ g | $B = 0.0858$ g | $A + B = 0.4905$ g | $A:B = 4.7$

4. Tag. Harnmenge = 265 ccm.
$A = 0.9235$ g | $B = 0.1134$ g | $A + B = 1.0369$ g | $A:B = 7.1$

Versuch mit $\beta$-Isobutylbenzol = $C_6H_5-CH<\begin{smallmatrix}CH_3\\C_2H_5\end{smallmatrix}$

1. Tag. Harn vor der Fütterung = 268 ccm.
$A = 0.793$ g | $B = 0.0938$ g | $A + B = 0.8868$ g | $A:B = 8.45$

2. Tag. Harnmenge = 289 ccm. (Eingabe von $2^1/_2$ g $\beta$-Isobutylbenzol.)
$A = 1.0323$ g | $B = 0.180$ g | $A + B = 1.2123$ g | $A:B = 5.7$

3. Tag. Harnmenge = 250 ccm.
$A = 0.9123$ g | $B = 0.204$ g | $A + B = 1.1163$ g | $A:B = 4.47$

4. Tag. Harnmenge = 272 ccm.
$A = 1.104$ g | $B = 0.0883$ g | $A + B = 1.1923$ g | $A:B = 12.5$

Auch an den auf die Fütterung mit $\beta$-Isobutylbenzol folgenden Tagen wurde durch Destillation des mit Schwefelsäure angesäuerten Harnes in minimalen Mengen ein in Wasser untersinkendes Oel erhalten, das jedoch nicht krystallisirte und wegen der geringen Menge zu keiner weiteren Untersuchung verwendet werden konnte. Auffallend war uns die Verminderung der Gesammtschwefelsäuren nach der Fütterung mit $\alpha$-Isobutylbenzol. Die durch die Eingabe der beiden Isobutylbenzole verursachte Vermehrung der gepaarten Schwefelsäuren im Harne ist, wie man sieht, so gering, dass sie fast innerhalb der täglichen Schwankungen zu liegen kommt. Wir müssen aber hervorheben, dass der Hund, welcher zur Zeit unserer über mehrere Monate dauernden Versuche sehr gleichmässig gehalten wurde, auch äusserst gleichmässige Mengen der Schwefelsäure, sowohl in Form der Salze, als auch in Form der Aetherschwefelsäuren ausschied. Da bei den minimalen Mengen der aus Butylbenzolen entstandenen Oxydationsproducte an deren Charakterisirung nicht zu denken war, so wollten wir sehen, wie bei Fütterung mit Benzol, welches nach den Versuchen von Schultzen und Naunyn zweifellos im Organismus zu Phenol oxydirt wird, die Ausscheidung der gepaarten Schwefelsäuren sich gestaltet.

Der mit Benzol angestellte Fütterungsversuch ergab uns in mancher Hinsicht bemerkenswerthe Zahlen:

1. Tag vor der Eingabe von Benzol, Harnmenge = 228 ccm.
$A = 0.9955$ g | $B = 0.082$ g | $A + B = 1.0037$ g | $A:B = 12.1$
(aus dem Harn bei der Destillation mit $SO_4H_2$ kein Phenol).

2. Tag. Eingabe von 2.5 g Benzol, Harnmenge = 300 ccm.
$A = 1.011$ g | $B = 0.1434$ g | $A + B = 1.1544$ g | $A:B = 7.0$
(Phenol in 24 Stunden 0.0156 g).

3. Tag. Harnmenge = 252 ccm.
$A = 0.756$ g | $B = 0.247$ g | $A + B = 1.003$ g | $A:B = 3.0$
(Phenol in 24 Stunden 0.0463 g).

4. Tag. Harnmenge = 265 ccm.

| $A$ = 0.8677 g | $B$ = 0.1883 g | $A + B$ = 1.0553 g | $A : B$ = 4.6 |
|---|---|---|---|

(Phenol in 24 Stunden 0.0209 g).

5. Tag. Harnmenge = 265 ccm.

| $A$ = 0.9284 g | $B$ = 0.1622 g | $A + B$ = 0.0906 g | $A : B$ = 5.7 |
|---|---|---|---|

(Phenol in 24 Stunden 0.0061 g).

6. Tag. Harnmenge = 272 ccm.

| $A$ = 1.023 g | $B$ = 0.135 g | $A + B$ = 1.158 g | $A : B$ = 7.6 |
|---|---|---|---|

(kein Phenol mehr im Harne).

Die Tabelle zeigt folgende Eigenthümlichkeiten:

1. Die Menge der gepaarten Schwefelsäuren ist um ein weniges grösser als nach der Fütterung mit Butylbenzolen. Das relative Verhältniss von $A : B$ ist aber ziemlich das Gleiche wie nach der Fütterung mit Isopropylbenzol.

2. Die Ausscheidung des nach Einnahme von Benzol entstehenden Phenols ist eine äusserst langsame. Sie erstreckt sich über 4 Tage und zwar wird die grösste Menge Phenol erst am 2. und 3. Tage ausgeschieden. Dass dies nicht ein Zufall ist, davon haben wir uns durch Wiederholung des Versuches, wobei der Hund 3 g Benzol erhielt, überzeugt. Auch hier wurde die Hauptmenge des Phenols erst am 2. und 3. Tage ausgeschieden.

Aehnliche Verhältnisse, jedoch nicht in so hohem Grade, zeigen die Versuchstabellen mit Cumol und den Butylbenzolen.

Es folgt hieraus, dass die aromatischen Kohlenwasserstoffe, namentlich das Benzol, lange Zeit im Organismus verbleiben und nur langsam oxydirt werden.

3. Vergleicht man die nach der Eingabe von Benzol ausgeschiedenen Aetherschwefelsäuren mit den am gleichen Tage ausgeschiedenen Phenolmengen, so ergiebt sich, nach Abzug der dem Phenol äquivalenten Mengen, sowie der normalerweise ausgeschiedenen gepaarten Schwefelsäuren, ein bedeutender, mehr wie die Hälfte betragender Ueberschuss an Schwefelsäuren. Aehnliche Verhältnisse beobachtete zuerst F. Schaffer[1]) nach der Fütterung eines Hundes mit Phenol, wonach Baumann und Preusse[2]) zeigten, dass die überschüssige Aetherschwefelsäure in Folge des durch weitere Oxydation des Phenols entstandenen Brenzcatechins und Hydrochinons auftritt. Wir haben deshalb in einer neuen Versuchsreihe dem Hunde grössere Quantitäten Benzol = 5 g pro die eingegeben. Gleichzeitig wurde der Hund mit einem Gemisch von gleichen Theilen Olivenöl und Benzol, nachdem ihm vorher das Haar abgeschoren war, in einer Ausdehnung von etwa 1 qdcm täglich mit einem Pinsel am Rücken bestrichen. Der hierauf von 5 Tagen gesammelte Harn wurde auf etwa $^1/_4$ des ursprünglichen Volumens eingedampft, filtrirt, das Filtrat einige Minuten mit überschüssiger $H_2SO_4$ gekocht und mit Aether extrahirt. Die ätherischen Extracte wurden nach dem Abdestilliren des Aethers mit kohlensaurem Baryum gekocht und von Neuem mit Aether extrahirt. Die nunmehr erhaltenen ätherischen Auszüge sollten das durch weitere Oxydation

[1]) Journ. f. prakt. Chem. **19**, 282, Jahrg. 1878.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **3**, 15, Jahrg. 1879.

des Benzols entstandene Brenzcatechin und Hydrochinon enthalten. Der abdestillirte Aether hinterliess einen geringen harzigen Rückstand, der sich zum Theil in wenig kaltem Wasser auflöste. Die von dem ungelöst gebliebenen Harze filtrirte Flüssigkeit zeigte alle Reactionen des Brenzcatechins. Sie wurde mit Bleizuckerlösung so lange versetzt, als noch ein Niederschlag entstand, der Bleiniederschlag mit Wasser gewaschen, getrocknet, sodann mit einigen Tropfen verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Aether geschüttelt. Der abgegossene und verdunstete Aether hinterliess einen geringen Rückstand, der beim Stehen im Exsiccator in kurzen quadratischen Prismen auskrystallisirte, in glänzenden Blättern sublimirte und in wenig Wasser gelöst mit Eisenchlorid sich dunkelgrün färbte, also alle Eigenschaften des Brenzcatechins besass. Hydrochinon konnten wir, in dem von dem ursprünglichen Bleiniederschlage erhaltenen Filtrate, nicht auffinden.

In der Erwartung, dass vielleicht im menschlichen Organismus grössere Mengen Benzol oxydirt werden, benutzten wir den Umstand, dass gleichzeitig in der hiesigen medicinischen Klinik Versuche über die therapeutische Verwendung des Benzols angestellt wurden und verarbeiteten etwa 10 Liter Harn von Patienten, die täglich 6 g Benzol erhielten. Der Harn wurde genau wie oben angegeben verarbeitet. Wir haben daraus Brenzcatechin dargestellt und obgleich es uns nicht gelang, Hydrochinon in reinem Zustande darzustellen, so glauben wir doch, gestützt auf die von Baumann und Preusse für Hydrochinon gefundene sehr empfindliche Reaction, dessen Anwesenheit in den verarbeiteten Harnextracten constatirt zu haben. Als wir nämlich den nach der Behandlung der Harnextracte mit kohlensaurem Baryum erhaltenen ätherischen Auszug verdunsteten, hinterblieben neben harziger Materie auch braun gefärbte Krystallnadeln, welche, trocken erhitzt, unter Bildung violetter Dämpfe sublimirten.

Das Resumé unserer Versuche ist, dass die von uns verfütterten Kohlenwasserstoffe nur zum geringsten Theil im Organismus oxydirt werden. Der grössere Theil entzieht sich der Oxydation zum Theil wohl dadurch, dass die gefütterten Kohlenwasserstoffe nicht vollkommen resorbirt werden, zum grösseren Theil aber wohl dadurch, dass sie unverändert durch die Lungen den Organismus verlassen. Wir vermuthen dieses deshalb, weil bei den kleineren Dosen = $2^1/_2$ bis 4 g pro die der Hund nur jeden 3. oder 4. Tag seinen Koth entleerte; andererseits, wie das namentlich aus den Versuchen mit Benzol hervorgeht, verbleibt der einmal eingeführte Kohlenwasserstoff tagelang in den Geweben, ehe er vollkommen ausgeschieden wird. Eine vollständige Oxydation der verfütterten Kohlenwasserstoffe zu Kohlensäure und Wasser ist übrigens auch nicht ausgeschlossen. Als ein allgemeines Gesetz, die Oxydation der Kohlenwasserstoffe im Organismus betreffend, können wir constatiren, dass der Angriff des oxydirenden Sauerstoffs stets entweder den Benzolkern oder das mit dem Kern verbundene Kohlenstoffatom trifft.

Im Anschluss hieran wollen wir noch über einen mit der Phenolglycolsäure $C_6H_5-O-CH_2-COOH$ an Menschen angestellten Versuch berichten. Wir haben nämlich gesehen, wie dies auch schon vor uns Fritsche fand, dass die Phenolglycolsäure antiseptische Eigenschaften besitzt und haben daher erwartet, dass

sie sich vielleicht therapeutisch werde verwenden lassen. Prof. Lichtheim hatte die Freundlichkeit, Phenolglycolsäure in Dosen bis zu 5 bis 7 g pro die in einigen Fällen von acuten, fieberhaften Krankheiten zu verabreichen. Die Phenolglycolsäure zeigte aber keine die Temperatur merklich herabsetzende Wirkung. Der nach Genuss von Phenolglycolsäure zum Syrup eingedampfte Menschenharn wurde zunächst mit Alkohol extrahirt, der alkoholische Auszug verdunstet, der Rückstand nach dem Erkalten mit $H_2SO_4$ angesäuert und mit Aether geschüttelt. Die abdestillirten, ätherischen Auszüge hinterliessen in reichlichen Mengen einen öligen Rückstand, der nach Wasserzusatz krystallinisch erstarrte und durch mehrfache Krystallisation aus heissem Wasser unter Zusatz von Thierkohle gereinigt wurde. Die in farblosen Nadeln krystallisirende Substanz hatte den Schmelzpunkt der Phenolglycolsäure (96°), war stickstofffrei und ergab bei der Elementaranalyse mit der Formel $C_8H_8O_3$ übereinstimmende Zahlen.

0.2278 g der über $SO_4H_2$ getrockneten Substanz gaben 0.5280 g $CO_2$ und 0.1165 g $H_2O$ oder 63.21 Proc. O und 5.68 Proc. H. Die Formel $C_8H_8O_3$ verlangt 63.16 Proc. C und 5.26 Proc. H.

Die Phenolglycolsäure, welche in nahezu theoretischer Menge im Harne wieder erscheint, paart sich demnach im menschlichen Organismus mit Glycocoll nicht. Durch einen besonderen Versuch haben wir uns noch überzeugt, dass sie im Organismus nicht in Phenol und Glycolsäure gespalten wird. So enthielt der 24stündige Harn eines an acutem Gelenkrheumatismus leidenden Mannes am Tage vor der Eingabe der Phenolglycolsäure 0.013 g Phenol. Nach der Eingabe von 5 g Phenolglycolsäure enthielt die 24stündige Harnmenge nur 0.016 g Phenol.

---

# Ueber die Oxydation des Benzols durch Ozon und die Oxydationen im Thierkörper

von

**M. Nencki** und **P. Giacosa.**

*Zeitschr. f. physiol. Chem.* **4**, 339.

Ausgehend von der wiederholt constatirten Beobachtung, dass zwischen den Oxydationen organischer Verbindungen mittelst Ozon und solcher im Thierkörper eine grosse Aehnlichkeit besteht [1]), haben wir in der Erwartung, dass dabei vielleicht Phenol gebildet werde, die Einwirkung ozonisirten Sauerstoffs auf Benzol untersucht. Houzeau und Renard [2]), welche bereits vor mehreren Jahren mit diesem Gegenstande sich beschäftigt haben, geben an, beim Behandeln von Benzol mit Ozon,

---

[1]) Vergl. hierüber die Arbeit von Dr. Kaufmann, Journ. f. prakt. Chem. **17**, 81. — Dieser Band S. 360.

[2]) Comptes rendus 1873, 3 mars.

ausser Ameisen- und Essigsäure, einen weissen, amorphen, explosiven Körper erhalten zu haben, den sie Ozobenzol nennen. Dieser sehr unbeständige Körper werde von Wasser unter Bildung von Essigsäure gelöst und durch Alkalien gebräunt.

Unsere Versuchsanordnung war folgende: 5 bis 10 g reines, über Natrium rectificirtes und bei 79° (710 mm B.) constant siedendes Benzol wurden mit dem gleichen Gewicht 1 proc. Kalilauge in ein Kölbchen gebracht, das mit einem doppelt durchbohrten Kork verschlossen war. Durch die eine Oeffnung des Korkes ging ein aufrechtstehender Kühler, durch die andere eine ein wenig in den Hals hineinragende Glasröhre, durch welche der ozonisirte Sauerstoff eingeleitet wurde. Der aus dem Gasometer austretende Sauerstoff, nachdem er durch Kalilauge und concentrirte Schwefelsäure gereinigt war, trat in einen Geissler'schen Ozonisator. Der austretende ozonisirte Sauerstoff wurde vor dem Eintritt in das mit Benzol gefüllte Kölbchen noch durch Wasser gewaschen. Für die dunkle elektrische Entladung im Ozonisator benutzten wir sechs grosse Bunsen'sche Elemente und einen Ruhmkorff'schen Apparat, der etwa 2 cm lange Funken gab. Das Kölbchen wurde nun auf dem Wasserbade erwärmt, wodurch die entweichenden Benzoldämpfe der Einwirkung des eintretenden Ozons ausgesetzt wurden. Die in dem Kühlrohr condensirten Dämpfe flossen zurück und die durch Oxydation entstehenden sauren Producte wurden an die verdünnte Kalilauge gebunden. Schon nach einem halbstündigen Einleiten des Ozons färbte sich die untere alkalische Schicht gelblich und nach 3- bis 5 stündigem Einleiten wurde sie dunkelbraun, wahrscheinlich durch Zersetzung des Ozobenzols. Nach Verlauf dieser Zeit haben wir die Operation unterbrochen, die Flüssigkeit zur Entfernung des grösstentheils unzersetzten Benzols auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet, den Rückstand mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und aus einem Fractionirkölbchen destillirt. Das schwach nach Essigsäure riechende Destillat in einem Reagenzröhrchen mit Bromwasser, oder besser Bromdampf versetzt, trübt sich stark milchig und sofort scheiden sich weisse Krystalle aus, die nach ihren Eigenschaften vorwiegend aus Tribromphenol bestehen. Leider war die Ausbeute äusserst gering. Sie betrug stets nur wenige Milligramme und trotz vielfacher Variationen der Versuchseinrichtung gelang es uns nicht, die Ausbeute wesentlich zu vermehren. Verhältnissmässig noch die grösste Menge Phenol wurde erhalten, als wir die Benzoldämpfe in den Ozonisator selbst eintreten liessen; nur war dies insofern nicht zulässig, als beim stärkeren Strome statt stiller elektrischer Entladung der Funken übersprang und die Dämpfe entzündete. Wir hätten nicht unterlassen, trotz der geringen Ausbeute das Tribromphenol in für Analysen hinreichender Menge zu bereiten, wenn nicht noch eine zweite Schwierigkeit dem Vorhaben sich entgegengestellt hätte. Der durch Brom erzeugte weisse krystallinische Niederschlag zeigte sich schon mikroskopisch betrachtet nicht homogen. Er bestand zum Theil wie das Tribromphenol aus feinen rhombischen Nadeln, zum Theil aus kurzen, sternförmig vereinigten Prismen. Wurde der Bromniederschlag mit einigen Tropfen verdünnter Alkalien behandelt, so löste er sich zum grössten Theil auf, zum kleineren aber blieb er ungelöst und erst nach längerem Schütteln erfolgte die Lösung. In der filtrirten alkalischen Lösung erzeugte Salzsäure einen flockigen Niederschlag, der unter dem Mikroskope aus feinen Krystallnadeln bestand, genau

so wie eine zum Vergleich mit reinem Tribromphenol angestellte Probe. Da wir auch den Schmelzpunkt des durch Oxydation des Benzols entstandenen und mit Brom gefällten Productes zu niedrig — bei 84° — fanden, so haben wir das Product durch Sublimation zwischen zwei Uhrgläsern zu reinigen versucht. Das aus langen, feinen Nadeln genau vom Aussehen des sublimirten Tribromphenols bestehende Sublimat schmolz dann bei 97°. Eine andere Probe, ebenfalls sublimirten Productes, schmolz aber bei 83°. Wenn also das von uns erhaltene Product nicht homogen war, so ist doch die Oxydation geringer Mengen Benzols zu Phenol kaum zu bezweifeln. Es ist dies seit vorigem Jahre schon der dritte Oxydationsmodus, nach welchem Benzol direct in Phenol übergeführt werden kann. Hoppe-Seyler[1]) fand zuerst, dass Benzol, mit Palladium-Wasserstoff und etwas Wasser bei Luftzutritt geschüttelt, allmählich unter Bildung verschiedener Körper oxydirt wird. Aus den Oxydationsproducten des Benzols isolirte Hoppe-Seyler das Phenol, wenn auch nicht in ganz reinem Zustande und fast gleichzeitig zeigten Friedel und Crafts[2]), dass, wenn Sauerstoff in ein Gemisch von Aluminiumchlorid und Benzol, welches bis zum Sieden erhitzt wird, geleitet wird, man Phenol und einen rothen Farbstoff (ein Derivat des Phenols) erhält. Das Toluol liefert unter denselben Bedingungen Kresol.

Zur Zeit, als Schultzen und Naunyn[3]) die so interessante Oxydation des Benzols im Organismus fanden, war es noch nicht gelungen, durch künstliche Oxydation Benzol in Phenol überzuführen, oder wenigstens mit den damaligen Untersuchungsmethoden Phenol unter den Oxydationsproducten nachzuweisen. Die gleichzeitig sorgfältig ausgeführten Versuche von Carius[4]) haben ausser Kohlensäure nur noch Ameisensäure, Benzoësäure und Phtalsäure als die einzigen definirbaren Oxydationsproducte des Benzols ergeben.

Als nun Hoppe-Seyler fand, dass in Gegenwart von Palladium-Wasserstoff Benzol mit Luft geschüttelt zu Phenol oxydirt werde und den Vorgang so erklärte, dass der Wasserstoff, indem er sich aus dem Molekül $O_2$ ein Atom O aneignet, das andere Atom O in Freiheit setzt, also in den status nascens versetzt „activ" macht, glaubten einige physiologische Chemiker[5]), dass dadurch ein Verständniss für die Oxydationsvorgänge im Thierkörper überhaupt auf experimenteller Grundlage eröffnet werde.

Insofern die Herren Baumann und Preusse mit diesem allgemeinen Ausspruche sagen wollten, dass im Momente, wo der Blutsauerstoff aus den Capillaren in die Gewebe übertritt, er aus dem indifferenten in den „activen" Zustand übergeht, also dass das Molekül $O_2$ in Atome ($O_2 = O + O$) zerfalle, sind wir mit ihrem Ausspruche einverstanden; denn auch die Oxydation des Benzols durch Ozon lässt sich am einfachsten so erklären, dass das Ozon — $O_3$ — beim Zusammentreffen mit dem Benzol in $O_2 + O$ sich spaltet, also dass der Sauerstoff als Atom Benzol zu Phenol oxydire.

[1]) Ber. **12**, 1552.
[2]) Comptes rendus 1879, **24**, 1460.
[3]) Reichert's u. Du Bois-Reymond's Archiv 1867.
[4]) Ann. Chem. Pharm. **148**, 70.
[5]) Baumann und Preusse, Zeitschr. f. phys. Chem. **3**, 158.

Als voreilig müssten wir es aber bezeichnen, wenn damit gesagt werden sollte, dass durch den „activen" Wasserstoff das „Activwerden" des Sauerstoffs im Thierkörper geschieht. Activer Wasserstoff und überhaupt Wasserstoff ist bis jetzt weder in den Geweben noch im Blute [1]) aufgefunden worden, und es ist uns nicht wahrscheinlich, dass er überhaupt daselbst, etwa durch fermentative Vorgänge, gebildet werde. Die löslichen Fermente — und nur um solche kann es sich in den lebendigen thierischen Zellen normalerweise handeln — des Thier- und Pflanzenreiches zersetzen die organischen Verbindungen nur durch Hydratationen, die nicht einmal tiefgreifend sind. Producte, wie wir sie aus diesen Verbindungen durch Oxydations-, Reductions- oder Condensationsagentien erhalten, treten dabei nicht auf. Dass bei der Zersetzung organischer Verbindungen durch den Lebensprocess gewisser Species der Spaltpilze Wasserstoff frei wird, ist bekannt. Wir sind aber nicht berechtigt, die Lebenserscheinungen dieser einzelligen Organismen ohne Weiteres auf die verschiedenen Zellencomplexe des thierischen Organismus zu übertragen. Weil die Fäulniss ein Lebensprocess ist, so folgt daraus nicht, dass, wie **Mitscherlich** irrthümlich meinte, „das Leben nur ein Fäulnissprocess sei". ***Τά μεν γένη κατὰ τῶν εἰδῶν κατηγορεῖται, τά δε εἴδη κατὰ τῶν γενῶν οὐκ ἀντιστρέφει.*** (Genera quidem de speciebus prædicantur, sed non vicissim species de generibus) Aristoteles categ. c. 5, p. 2, b. 20.

Cymol wird im Organismus zu Cuminsäure oxydirt. Bis vor Kurzem schien diese Art der Oxydation dem Thierkörper eigen zu sein, denn durch Oxydation des Cymols mit verdünnter Salpetersäure oder saurem chromsaurem Kalium und Schwefelsäure wurde nur entweder Terephtalsäure oder Terephtalsäure und Toluylsäure erhalten. In einer Mittheilung an die Pariser Akademie zeigt Herr **Etard** [2]) an, dass Cymol durch Chromylchlorid fast quantitativ in Cuminaldehyd übergeführt werden kann. Es entsteht in dieser Reaction zunächst eine Doppelverbindung von der Zusammensetzung $C_6H_4<^{C_3H_7}_{CH_3}\ 2\,(CrO_2Cl_2)$, die durch Wasser in Cuminaldehyd, Chromsäure und Chromsesquioxyd gespalten wird. Der Mechanismus dieses Processes ist allem Anscheine nach der, dass zuerst das angelagerte Chromchlorid durch Wasser in Chromsäurehydrat übergeführt wird. Das letztere aber zerfällt in erster Instanz in Chromsäureanhydrid und sodann in Chromoxyd und Sauerstoff.

$$1.\quad CrO_2Cl_2 + (H_2O)_2 = CrO_2<^{OH}_{OH} + 2\,HCl$$

$$2.\quad CrO_2<^{OH}_{OH} = H_2O + CrO_3 \text{ und}$$

$$3.\quad (CrO_3)_2 = Cr_2O_3 + O_2 + O.$$

Es würde also auch hier das Atom O als „activer Sauerstoff" auf das Methyl des Cymols einwirken. Das Charakteristische aber in dieser Reaction besteht in der Anlagerung des Chromylchlorids an den Kohlenwasserstoff. Nach den Unter-

[1]) Wir sehen hier natürlich ab von den geringen Mengen von Wasserstoff und Grubengas in der Exspirationsluft, welche ohne Zweifel den Fäulniss- und Gährungsprocessen im Darmcanale entstammen.

[2]) Comptes rendus 1880, **90**, 534.

suchungen Gustavson's[1]) findet auch bei den Oxydationen mittelst der Friedel'schen Reaction stets die Bildung solcher Additionen von den Kohlenwasserstoffen an das Aluminiumchlorid resp. -bromid statt. Durch diese Oxydationen aber wird, gleich wie im Thierkörper, Benzol zu Phenol und Cumol zu Cuminsäure oxydirt. Aehnlich wie im Thierkörper geschehen ferner diese Oxydationen meistens bei niedrigen Temperaturen. Der Gedanke liegt nahe, dass auch im Thierkörper eine ähnliche Anlagerung der verbrennbaren Bestandtheile der Gewebe an den Sauerstoff, wobei der indifferente Sauerstoff des Oxyhämoglobins „activ" werde, erfolge. Erst weitere physiologische wie chemische Forschungen können uns aber Aufklärung über diese schwierigen Fragen verschaffen.

Bern, im Juni 1880.

Nachschrift.

Erst nach Absendung der vorliegenden Arbeit zum Drucke sind uns die in den Liebig'schen Annalen veröffentlichten ausgezeichneten Untersuchungen Radziszewski's „Ueber die Phosphorescenz der organischen und organisirten Körper" zugekommen. Durch den Nachweis, dass die meisten Bestandtheile der thierischen Gewebe in alkalischer Lösung das Sauerstoffmolekül in Atome spalten, wobei sie sich oxydiren, hat Radziszewski auf die einfachste Weise die physiologische Oxydation erklärt.

---

## Zur Abwehr

von

**M. Nencki.**

Zeitschr. f. physiol. Chem. 4, 190.

Die im vierten Bande der Zeitschrift für physiol. Chemie, S. 100, veröffentlichte Abhandlung des Herrn E. Salkowski „Ueber das Verhalten des Glycocolls im Organismus" nöthigt mich zu folgender Erklärung.

Schultzen und ich haben unsere Untersuchungen über die Vorstufen des Harnstoffs im Organismus zuerst in den Berliner chemischen Berichten, Bd. 2, Jahrg. 1869, S. 566 publicirt. Bald darauf übersiedelte Schultzen nach Dorpat und wir konnten in Berlin nur noch die Fütterungsversuche mit Tyrosin anstellen. Von Dorpat aus hat dann Schultzen ausführlich unsere Fütterungsversuche mit Acetamid, Glycocoll, Leucin und Tyrosin in der Zeitschrift für Biologie, Bd. 8, S. 124, veröffentlicht.

Es bestehen nun zwischen der von uns beiden gemeinschaftlich redigirten Publication in den Berliner Berichten und der von Schultzen für die Voit'sche Zeitschrift verfassten einige unwesentliche Verschiedenheiten; auch sind in der

[1]) Ber. **11**, 1842; **12**, 859.

Abhandlung im Voit'schen Journal einige Rechnungs- und Druckfehler enthalten. Diese Fehler halte ich auch jetzt noch für unwesentlich, indem aus den Versuchstabellen der beiden Publicationen das gleiche Resultat: nämlich die Umwandlung des Glycocolls und Leucins zu Harnstoff im Organismus klar und sicher hervortritt.

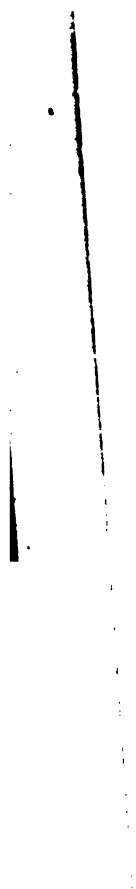
Herr E. Salkowski hat unsere Versuche wiederholt und bestätigt die Umwandlung des Glycocolls zu Harnstoff im Organismus. Die Druck- und Rechnungsfehler aber geben ihm Veranlassung, unsere Arbeit einer Kritik zu unterwerfen, die ich als ungerechtfertigt zurückweisen und seine hieran geknüpften Bemerkungen als unpassend bezeichnen muss. Wenn E. Salkowski unsere Arbeit kritisiren wollte, so war es seine Pflicht, die beiden darauf bezüglichen Publicationen genauer durchzusehen. E. Salkowski hat sich aber, ich weiss nicht aus welchem Grunde, nur an die Publication im Voit'schen Journal gehalten. Hätte er die Arbeit in den Berliner Berichten gelesen, so hätte er gefunden, dass seine Ausstellungen unbegründet sind. Es werden dort nicht 2, sondern 3 Tage als unter dem Einflusse des Glycocolls stehend angesehen, welche einen Ueberschuss an Harnstoff von 10.12 g ergeben. Die aus den 30 g Glycocoll berechnete Harnstoffmenge wäre 11.39 g. Mit vollem Rechte konnten wir daraus schliessen, dass das Glycocoll zu Harnstoff umgewandelt wird. Die Differenz lag, wie bei solchen physiologischen Versuchen, innerhalb der Fehlergrenzen. Wir haben übrigens an den Glycocolltagen vergeblich nach dem letzteren im Harne gesucht.

Salkowski bezeichnet unsere Versuchsreihe als nicht mustergültig, vergisst aber, dass auf Grund unserer Arbeit und zum Theil nach unserem Muster von ihm und manchen Anderen über das Verhalten der Amide, der Amidosäuren und des Ammoniaks im Organismus eine Reihe von Untersuchungen ausgeführt worden sind. Will vielleicht Herr Salkowski die in seiner Arbeit mitgetheilten Versuchsreihen als mustergültig bezeichnen?

Salkowski sagt, wir hätten den Harnstoff nach der gewöhnlichen Bunsen'schen Methode bestimmt, vergisst aber, dass wir vor mehr als 10 Jahren die Ersten waren, die nach manchen fruchtlosen Versuchen diese Bestimmungsmethode in die physiologische Chemie eingeführt haben und die auch heute noch von ihm angewendet wird. Es ist viel schwieriger, neue Untersuchungsgebiete zu betreten und Methoden einzuführen, als wie auf dem einmal betretenen Wege fortzufahren, resp. einige Verbesserungen der Methode zu machen. Salkowski cultivirt mit Vorliebe die zweite Art der Forschung, wie dies die späteren Arbeiten über die Vorstufen des Harnstoffs, sowie die Publicationen über die Fäulniss beweisen. Es kann mir dies nur Recht sein, aber ich darf dafür wenigstens verlangen, dass meine Arbeiten nicht auf unbillige Weise beurtheilt werden.'

Bern, im März 1880.

---

Da wir in unserer Ausgabe der sämmtlichen Werke Prof. Nencki's die entsprechende Arbeit (s. S. 1) ohne welche Correctur aus dem Voit'schen Journal und nicht aus Berliner Berichten abgedruckt haben, so sehen wir uns genöthigt, aus sachlichem Interesse zum Vergleich und Illustration der obigen Aufklärung von Prof. Nencki die Tabelle der Harnstoffabscheidung nach dem Glycocollfutter aus den Berichten hier folgen zu lassen. H.

| atum | Harnmenge in 24 Std. | Spec. Gewicht | Harnstoff Proc. | Harnstoff in 24 Std. | N a. d. Harnst. berechnet | N direct gef. | Differenz | $NH_3$ in 24 Std. | Fütterung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 8. 69 | 343 | 1.0113 | 1.22 | 4.18 | — | — | — | — | — |
| „ | 360 | 1.0109 | 1.1 | 3.96 | — | — | — | 0.2034 | — |
| „ | 302 | 1.0103 | 1.24 | 3.78 | — | — | — | 0.2730 | 15.0 Glycocoll |
| „ | 250 | 1.0168 | 2.81 | 7.14 | 3.33 | 3.42 | 0.11 | 0.1977 | 15.0 Glycocoll |
| „ | 345 | 1.0148 | 2.78 | 9.73 | 4.32 | 5.22 | 1.12 | 0.3703 | — |
| „ | 265 | 1.0118 | 1.87 | 5.01 | 2.31 | 2.33 | 0.02 | 0.2435 | — |
| „ | 332 | 1.0093 | 1.13 | 3.78 | 1.85 | 1.76 | — 0.09 | 0.2626 | — |

# Ueber das Verhalten der Milzbrandbacillen in Gasen

von

**Josef Szpilman.**

(Hierzu Taf. VI.)

(Nach einer der k. k. Akademie der Wissenschaften in Krakau vorgelegten Abhandlung vom Verfasser mitgetheilt.) — Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**, 350. — (Der Redaction zugegangen am 7. Juli 1880.)

Dass die gewöhnlichen Fäulnissspaltpilze von den Athmungs- und Verdauungs-ganen aus in unsere Gewebe gelangen und dass deren Keime thatsächlich in den endigen gesunden Geweben sich vorfinden, haben neuerdings Nencki und acosa[1]) gezeigt. Die in den Geweben vorkommenden Keime der Spaltpilze er entwickeln sich nie zu ausgebildeten Fäulniss bewirkenden Formen. In den unden Geweben findet man nie Stäbchen oder Torulaformen. Auch enthalten die gesunden lebendigen Gewebe die für die putride Zersetzung charakteristischen altungsproducte des Eiweisses. Die Vertheilung dieser Organismen in den weben ist ebenfalls sehr verschieden. Die meisten finden sich im Pankreas und der Leber, während sie im Blute entweder gänzlich fehlen oder nur spärlich in vorkommen[2]). Da nun gerade die Milzbrandbacillen hauptsächlich in den tgefässen sich vorfinden, so war es schon a priori sehr wahrscheinlich, dass für die für die Entwickelung der Fäulnissspaltpilze schädlichen Momente keine ltung haben. Im Gegentheil jeder, der gesehen hat, dass durch die Infection es Thieres mit nur wenigen Milzbrandsporen innerhalb 24 bis 48 Stunden eine massenhafte Entwickelung und Vermehrung der Bacillen erfolgt, dass sie alle

[1]) Nencki und Giacosa, Journ. f. prakt. Chem. **20**, 34. — Dieser Band S. 471.

[2]) Vergl. Tiegel in Virchow's Archiv **60**, 453 und Nencki, Journ. f. prakt. Chem. **19**, 337. · Dieser Band S. 436.

Capillargefässe verstopfen, muss zugeben, dass das circulirende Blut eher günstig als schädlich für ihr Leben sei. — Die Lebensbedingungen der Milzbrandbacillen sind durchaus von denen der Fäulnissspaltspilze verschieden.

In Pflüger's Archiv für Physiologie **15**, 245 haben die Herren Grossmann und Mayerhausen Versuche über das Leben der Fäulnissbacterien in Gasen veröffentlicht, deren Ergebniss kurz resumirt folgendes ist:

Wasserstoffgas ist für frische Bacterien selbst nach 2- bis 3 tägigem Verbleiben darin vollkommen indifferent. Wenn aber das die Bacterien enthaltende Infus bereits einige Zeit alt ist und die Bacterien erst dann in Wasserstoffatmosphäre gebracht werden, so tritt Verlangsamung ihrer Bewegungen ein, die sich bis zur vollständigen Ruhe mit einfacher Molekularbewegung steigert.

Kohlensäure wirkt entschieden lähmend auf die Bacterienbewegungen, doch ist die Zeit so wie die Intensität der Einwirkung durchaus verschieden bei Bacterien verschiedenen Alters, so dass frische Organismen viel eher in den Stillstand kommen als ältere — jedoch nur bis zu einer gewissen Grenze. Ueber die Grenze hinaus gerathen alle Bacterien gleichmässig in Ruhe.

Die mit Sauerstoff erhaltenen Resultate waren für alle Bacterien von grosser Uebereinstimmung und zwar wird der Lebensprocess der Bacterien nach jeder Richtung hin erhöht. Im Vergleich zur atmosphärischen Luft und übrigen Gasen findet im Sauerstoff eine enorm beschleunigte Bewegung und Verkleinerung resp. Theilung statt. In Folge dessen thut sich die numerische Vermehrung der Formen schon makroskopisch kund, indem der Tropfen, der vorher ziemlich klar war, nach 2 bis 3 Tagen fast milchig weiss und undurchsichtig geworden ist.

Gerade entgegengesetzt der Wirkung des Sauerstoffs war die Wirkung des Ozons. Ozon tödtete die Bacterien in jedem Stadium ihrer Entwickelung in sehr kurzer Zeit und fast momentan, sobald das Gas in hinreichender Concentration auf diese Organismen einwirken konnte.

Dieses differente Verhalten der Fäulnissbacterien gegen verschiedene Gase machte es wünschenswerth, auch das Verhalten der Milzbrandbacterien in Gasen einer Prüfung zu unterwerfen. Die von mir hierüber angestellten Versuche haben in mancher Hinsicht zu merkwürdigen und interessanten Ergebnissen geführt. Da sie zum grossen Theil die Formveränderungen dieser Organismen betreffen, so will ich in möglichster Kürze die Resultate der Untersuchungen der letzten Jahre über die Milzbrandbacterien vorausschicken.

Durch die ausgezeichnete Arbeit Koch's[1]) über die Milzbrandbacillen ist es nicht allein zweifellos erwiesen, dass nur diese Bacillenart den specifischen, als Milzbrand bezeichneten Krankheitsprocess veranlasst, sondern ist auch dadurch unter allen Spaltpilzen die Entwickelungsgeschichte des Bacillus Anthracis die bestbekannte geworden. Koch fand zuerst, dass die Milzbrandbacterien im Blute des todten Thieres oder in geeigneten anderen Nährflüssigkeiten bei der Bruttemperatur und Luftzutritt zu ausserordentlich langen unverzweigten Fäden auswachsen; dass ferner nach 10 bis 15 Stunden der Inhalt der Fäden zuerst fein granulirt erscheint und bald

[1]) Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen **2**, 277.

sich in regelmässigen Abständen sehr kleine mattglänzende Körner abscheiden, welche sich nach einigen weiteren Stunden zu stark lichtbrechenden Sporen vergrössern. Allmählich zerfallen dann die Fäden und die Sporen werden frei. Diese Sporen entwickeln sich wieder in geeigneter Nährflüssigkeit unter den früher angegebenen Bedingungen unmittelbar zu den ursprünglich im Blute vorkommenden Bacillen. Koch sagt ferner, dass es ihm nicht gelungen sei, den Vorgang, wie die Bacillen im Blute und in den Gewebssäften sich vermehren, direct zu beobachten. Da er aber öfters Bacillen mit einer beginnenden Quertheilung in ihrer Mitte, manche an dieser Stelle geknickte und noch andere unter einem Winkel lose zusammenhängend sah, so nimmt er als sicher an, dass ihre Vermehrung im circulirenden Blute durch Verlängerung und Quertheilung, nachdem sie ungefähr die doppelte Länge erreicht haben, geschieht.

Die im vorigen Jahre erschienene Arbeit Toussaint's[1]) vervollständigt in mancher Hinsicht die Untersuchungen Koch's. Toussaint hat zuerst mit Evidenz nachgewiesen, dass der Tod der milzbrandkranken Thiere hauptsächlich durch Embolie der Capillargefässe bedingt wird. In der That sind in der Regel die Capillargefässe aller Organe — namentlich aber der Lungen, wie ich das stets beobachtet habe — so vollständig durch die Bacillen verstopft, dass in Folge behinderter Circulation, so wie Sauerstoffentziehung der Tod durch Asphyxie erfolgen muss. In Betreff des Entwickelungsvorganges der Sporen zu Bacillen sind die Angaben Toussaint's von denen Koch's in mehreren Punkten different. Ich habe hierüber die Angaben Toussaint's bestätigt gefunden. Toussaint giebt ferner an, dass die aus den Sporen direct und nicht wie Koch behauptet, aus der sie umgebenden glashellen Masse ausgewachsenen Bacillen, indem sie zu wachsen beginnen, schwache, aber deutliche Bewegungen zeigen, welche aufhören, sobald die Bacillen lang genug sind, um sich zu theilen. Von den Bacillen, die in der Mitte des Präparates sich befinden, wird gesagt, dass sie in Folge des nicht hinreichenden Sauerstoffzutritts nie zu Fäden auswachsen, sondern sie bleiben kurz, aus 2 bis 5 Gliedern bestehend, welche sich leicht von einander trennen. Ich werde bei Beschreibung meiner Versuche auf diesen Theilungsvorgang noch ausführlich zu sprechen kommen, nur will ich gleich hier hervorheben, dass der von mir beobachtete Theilungsvorgang nicht dem Mangel an Luft resp. Sauerstoff zuzuschreiben war, denn in der Hälfte der Versuche entwickelten sich die Bacillen in der Mitte des Präparates zu den üppigsten und schönsten Fäden und dass die Ursache dieses verschiedenen Verhaltens — wie ich das gefunden habe — anderswo liegt. Ausser diesen zwei wichtigsten Publicationen hat Pasteur in den Comptes rendus mehrere Mittheilungen über den Milzbrand veröffentlicht, auf die ich noch später zurückkommen werde.

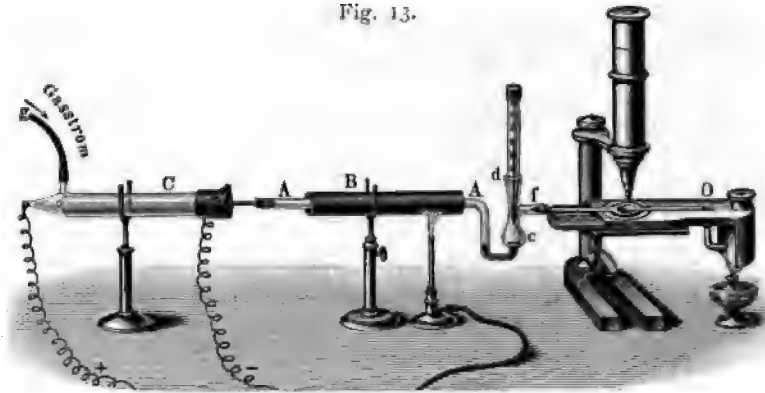
Nach mehrfachen Versuchen habe ich folgende Versuchsanordnung als die zweckmässigste und einfachste gefunden und sie daher für alle die Gase, mit denen ich experimentirte, beibehalten. Der beigefügte Holzschnitt (Fig. 13 a. f. S.) veranschaulicht die Zusammenstellung der Apparate.

Eine Glasröhre (*A*) von etwa 1 cm Durchmesser befindet sich in einer eisernen

---

[1]) Toussaint, Recherches expérimentales sur la maladie charbonneuse. Paris 1879.

25 cm langen Hülle (*B*). Der Zwischenraum zwischen beiden wurde mit Asbest ausgefüllt. Das U-förmig gebogene Ende der Röhre (*A*) ist an dem dem Mikroskope zugekehrten Schenkel zu einer kleinen Kugel (*c*) ausgeblasen. — Die Oeffnung (*d*) wird durch ein gut eingeschliffenes Thermometer geschlossen und durch das Ansatzstück (*f*) wird mit (*A*) mittelst eines Korkes eine Recklinghausen'sche Kammer verbunden. Die Kammer liegt unter dem Tubus des Mikroskopes auf dem heizbaren Objecttische (*O*). Die bacillenhaltige Flüssigkeit (Blut mit etwas frischem Humor aqueus aus Rinderaugen verdünnt oder bacillenhaltiges Gewebe darin zerrieben) wurde zuerst in die Recklinghausen'sche Kammer eingesogen, sodann in die Biegung der U-förmigen Röhre (*A*) einige Tropfen Wasser hineingespritzt, die Kammer mit dem Ende (*f*) verbunden und auf dem Objecttische befestigt. Bei Versuchen mit der atmosphärischen Luft, Sauerstoff und Kohlensäure trat das gereinigte Gas

Fig. 13.

in das Rohr (*A*) ein, zugleich wurde die eiserne Hülle (*B*) mit einer Gaslampe erhitzt, damit das heisse Gas in der Biegung der U-Röhre sich mit Wasserdampf sättige, wodurch der Austrocknung des Präparates in der Recklinghausen'schen Kammer vorgebeugt wird. Das in die Oeffnung (*d*) eingeschliffene Thermometer zeigt die Temperatur des austretenden feuchten Gases an, welche ich in meinen Versuchen nie über 40° C. gehen liess. — Ist die tiefste Stelle der Biegung eng, so brechen die Gasblasen in der Kugel vollkommen und in die Recklinghausen'sche Kammer wird durch das austretende Gas kein Wasser mit hineingerissen. Die mikroskopische Beobachtung geschah mit einem Zeiss'schen Mikroskop (Ocular 4, Objectiv E — Vergrösserung 660). — Um das zu untersuchende Präparat auf die Bruttemperatur zu erwärmen, benutzte ich den von Prof. Valentin[1]) construirten heizbaren Objecttisch[2]). Da der zu untersuchende Tropfen nicht in der Kammer des heizbaren Objecttisches, sondern auf derselben in der Recklinghausen'schen Kammer sich befand und folglich mehr der Abkühlung ausgesetzt war, so habe ich zuerst empirisch ermittelt, wie hoch der Objecttisch erwärmt werden müsse, um in

[1]) Valentin, Physikalische Untersuchung der Gewebe. Leipzig 1867.

[2]) Diese Objecttische sind käuflich zu haben bei der Société genevoise pour la construction d'instruments de physique (Genève, chemin Gourgas, 5).

der Recklinghausen'schen Kammer die Bruttemperatur zu haben. Für meinen Apparat fand ich, dass damit Paraffin vom Schmelzpunkt 37° C. in der Recklinghausen'schen Kammer zum Schmelzen komme, der Objecttisch auf 50° C. erwärmt werden müsse. Zu erwähnen wäre noch, dass das aus den Waschflaschen austretende Gas einen feinen Gasregulator passirte, so dass man vollkommen nach Belieben den Gasstrom reguliren konnte [1]).

### Versuche mit Sauerstoff und atmosphärischer Luft.

Es war von vornherein zu erwarten, dass Sauerstoffgas für das Leben und die Entwickelung der Milzbrandbacillen nur günstig sein werde. Diese Voraussetzung haben auch meine Experimente bestätigt. In einem Strome von Sauerstoffgas bei der Bruttemperatur vermehren sich die Milzbrandbacillen entweder durch Theilung oder durch Auswachsen in die langen Fäden und Sporenbildung. Sauerstoff und Luft sind übrigens ceteris paribus für das Leben der Milzbrandbacterien insofern gleich, als auch im Luftstrome die Bacillen sich theilen oder in Fäden auswachsen; nur sind die Lebenserscheinungen im Sauerstoffstrome viel intensiver. Aehnlich wie dies Grossmann und Mayerhausen für das Leben der Fäulnissbacterien angeben, ist im Vergleich zur atmosphärischen Luft im Sauerstoff die beschleunigte Vermehrung und Theilung der Milzbrandbacillen eine ganz auffallende. Die Theilung und Trennung einzelner Glieder erfolgt so rasch, dass die jungen Bacillen im Augenblicke des Freiwerdens ausserordentlich kurz erscheinen. Ihre Länge betrug in einigen Versuchen 2 bis 5 Mikromillimeter. Von wesentlichem Einfluss auf das Theilen oder Auswachsen der Milzbrandbacillen ist der Umstand, ob sie vor oder nach dem Tode des kranken Thieres in Sauerstoff resp. Luftstrom gebracht worden sind. Im Blute inficirter Thiere werden die Milzbrandbacterien erst 2 bis 6 Stunden vor dem Tode sichtbar. Entnimmt man einem inficirten Kaninchen oder einer Maus, nachdem bereits die Erkrankungssymptome eingetreten sind — in Zeitintervallen von etwa einer Viertelstunde — einen Tropfen Blut, so kann man sehr schön die rapide Vermehrung derselben im circulirenden Blute sehen. War ihre Menge für die spätere mikroskopische Untersuchung hinreichend gross, so wurde das Thier getödtet, das Blut mit etwas frischem Humor aqueus verdünnt, sofort in die Recklinghausen'sche Kammer gebracht und das Gas durchgeleitet. Die dem Blute entnommenen Bacillen sind zum grossen Theil, wie dies schon frühere Beobachter gesehen haben, in ihrer Mitte quergetheilt, manche unter einem Winkel geknickt. Man sieht auch häufig Bacillen aus mehreren, 2 bis 5, höchstens 6 Gliedern bestehen.

In allen meinen Versuchen sind die vor dem Tode des Thieres entnommenen Bacillen nie zu Fäden ausgewachsen, sondern vermehrten sich durch Quertheilung. Dass sich die Milzbrandbacillen im circulirenden Blute theilen, wird als sicher angenommen. Der Vorgang der Theilung selbst aber ist bis jetzt von Niemandem gesehen und beschrieben worden. Ich habe bei meiner Versuchsanordnung den

[1]) Diese Regulatoren, welche Prof. Nencki im hiesigen Laboratorium für Elementaranalysen einführte, werden von der Firma Herrmann und Pfister in Bern für den Preis von 20 Fr. angefertigt.

Theilungsvorgang der Milzbrandbacillen vielfach beobachtet und will deshalb einige meiner Versuchsprotokolle nebst zugehörigen Zeichnungen mittheilen.

1. Um $2^{1}/_{4}$ Uhr Nachmittags wurde das Blut aus der Arteria cruralis eines milzbrandkranken Thieres entnommen. Beginn der Sauerstoffdurchleitung $2^{1}/_{2}$ Uhr. Durchschnittlich passiren 50 Gasblasen in einer Minute durch den Apparat. Es wird ein in der Mitte des Präparats liegender Bacillus fixirt (siehe Taf. VI, Fig. 1 *a*). Die folgenden Zeichnungen zeigen die Veränderungen in Intervallen von einer halben Stunde — bis der Versuch um 5 Uhr unterbrochen wurde. Innerhalb also zweier Stunden sind aus dem ursprünglichen bereits quergetheilten Bacillus 5 neue isolirte — oder 12 segmentirte Glieder entstanden. Die Theilung geschieht so, dass zuerst Verlängerung, dann Segmentirung und zuletzt Knickung erfolgt. Die Losreissung des geknickten Segments kommt grösstentheils so zu Stande, dass der Winkel immer kleiner, zuletzt spitz wird, bis durch eine kaum merkliche Verschiebung die Trennung der Glieder stattfindet. Manchmal — wie ich das öfters beobachtet habe, schieben sich die früher im Zusammenhange gewesenen Enden der Segmente über einander — ja sogar, wahrscheinlich in Folge einer intensiveren, obgleich nicht sichtbaren Bewegung, kreuzen sich die getrennten Glieder vollständig, so dass sie nach der Theilung eine Art x bilden. Es trennen sich oft einzelne, in anderen Fällen schon segmentirte Glieder los.

2. Ein milzbrandkrankes Kaninchen wurde bereits in der Agonie getödtet. Beginn der Sauerstoffdurchleitung um 10 Uhr Morgens. Nach einer halben Stunde bemerkte man an den meisten Bacillen das Auswachsen in die Länge und Segmentirung. Die Trennung der Glieder und zwar der nur 0.005 bis 7 mm kurzen Endsegmente erfolgte hier sehr rasch. Interessant war es zu sehen, dass die Endglieder vor ihrer Trennung schwache, aber sehr deutlich wahrnehmbare, nach beiden Seiten hin oscillirende Bewegungen zeigten. Diese Oscillationen in der Längsaxe betrugen 1 bis $2^{0}$ und dauerten noch 5 bis 6 Minuten nach der Losreissung des Segmentes an. Fig. 2 zeigt die Veränderungen der beiden fixirten Bacillen (a. b.) innerhalb eines Zeitintervalles von einer halben Stunde.

Je rascher die Trennung der Glieder im Sauerstoffstrome erfolgt, um so kleiner sind sie auch und um so länger behalten sie nach der Trennung ihre oscillirenden Bewegungen.

3. Um 4 Uhr Nachmittags wird ein milzbrandkrankes Kaninchen getödtet und das Blut im Sauerstoffstrome untersucht. Um 5 Uhr sah ich eine kolossale Vermehrung und Theilung in kleine Segmente, die fast das Aussehen von Torulaformen hatten (siehe Fig. 3). Die losgerissenen Stäbchen sehen fast quadratisch aus und haben die Länge von 2 bis 3 Mikromillimeter. Nach der Lostrennung zeigen sie fast eine halbe Stunde lang schwache andauernde oscillirende Bewegungen, sie verändern auch ihren Ort im Gesichtsfelde, ohne jedoch völlig aus demselben zu verschwinden. Um 6 Uhr wird der Versuch unterbrochen, das Präparat aus der Recklinghausen'schen Kammer auf ein Deckglas gebracht und in einer Paraffinzelle im Brütofen durch die Nacht stehen gelassen. Am folgenden Tage zeigt die mikroskopische Untersuchung, dass diese kurzen Stäbchen zu langen Fäden ausgewachsen sind.

Aehnliche Verhältnisse, d. h. Quertheilung, Knickung und Losreissen, wurden auch — falls die Milzbrandbacillen noch vor dem Tode des Thieres zur Untersuchung kamen — im Luftstrome beobachtet, jedoch mit dem Unterschiede, dass in der Luft der Zerfall in so kleine Segmente wie im Sauerstoff nie erfolgt.

4. Um $10^1/_2$ Uhr Morgens wird ein milzbrandkrankes Kaninchen während der Agonie getödtet. Beginn der Luftdurchleitung um 11 Uhr. Gleich in der ersten Stunde sah ich die Bacillen sich um das Doppelte verlängern und theilen. In kurzer Zeit wurden im Gesichtsfelde ganz isolirt stehende Gruppen von Bacillen sichtbar — entsprechend dem Umstande, dass aus einem oder zweien neben einander liegenden Bacillen sich eine grössere Zahl derselben gebildet hat. Fig. 4 veranschaulicht die Veränderungen, welche ein um 11 Uhr fixirter, geknickter Bacillus innerhalb 4 Stunden durchgemacht hat. In diesem Versuche habe ich die Grössenverhältnisse und daraus die Intensität der Vermehrung bestimmt — und dabei folgende Zahlen erhalten:

Länge des ursprünglich geknickten Bacillus bei Beginn des Versuchs (11 Uhr) = 0.02926 mm,

| Länge der 8 daraus entstandenen Bacillen nach 4 Stunden | |
|---|---|
| | 1 = 0.01064 mm |
| | 2 = 0.00798 „ |
| | 3 = 0.01330 „ |
| | 4 = 0.01596 „ |
| | 5 = 0.01330 „ |
| | 6 = 0.01064 „ |
| | 7 = 0.01596 „ |
| | 8 = 0.00532 „ |
| | Summa 0.09310 mm |

Innerhalb also 4 Stunden sind aus dem ursprünglichen geknickten Bacillus von 0.02926 mm Länge 8 neue von der Gesammtlänge 0.09310 mm geworden, welche einer Verlängerung um das Dreifache oder genau um das 3.18- oder in einer Stunde um das 0.8 fache entspricht.

In einem zweiten Versuche mit Luft, wo die ebenfalls vor dem Tode des Thieres entnommenen Bacillen sich theilten, betrug die Länge eines bei Beginn des Versuchs fixirten und aus drei Gliedern bestehenden Bacillus 0.01862 mm. — Nach drei und einer halben Stunde sind 12 neue entstanden, von der Gesammtlänge 0.05586 — also genau eine dreifache oder in einer Stunde eine 0.9 fache Längenzunahme.

Wie schon oben erwähnt, erfolgte die Theilung der Bacillen nur dann, wenn das Blut noch vor dem Tode des Thieres zur Untersuchung kam. Nach dem Tode des Thieres aus dem Cadaver entnommene Bacillen theilten sich in der Recklinghausen'schen Kammer, sei es im Sauerstoff, sei es im Luftstrome, nicht, sondern wuchsen zu Fäden aus, in denen nach 10 bis 15 Stunden, wie das Koch beschrieben hat, die Sporenbildung erfolgte. Es ist dies wenigstens das Resultat aus zehn wohlgelungenen Versuchsreihen. In einem Falle habe ich nur eine Stunde im Luftstrome, in einem anderen sogar nur eine halbe Stunde im Sauerstoffstrome nach dem Tode die Untersuchung vorgenommen, aber auch jetzt erfolgte keine Theilung, sondern Auswachsung in die Fäden, obgleich bei Beginn

des Versuches die Bacillen grösstentheils quergetheilt und geknickt waren. Im Anfange des Wachsthums werden die Bacillen etwas dicker, quellen auf und nachher wächst jedes Segment für sich und zeigt sogar im Verlauf des Wachsthums neue Segmentirung, aber es wird kein Losreissen der Segmente bemerkbar. Tritt die Sporenbildung ein, so sieht man — wie dies schon Toussaint[1]) abgebildet hat — dass die Sporen in den Reihen zu je zweien auf beiden Seiten der Querstriche auftreten. Manchmal sind die Querstriche nicht sichtbar, aber auch dann kommen gewöhnlich je zwei der Sporen, welche die ganze Breite des Fadens ausfüllen, in regelmässigen Abständen zum Vorschein. Einzelne in gleichen Intervallen liegende Sporen sind verhältnissmässig viel seltener zu sehen. Was die Behauptung Toussaint's[2]) anbelangt, dass die Bacillen im Dunkeln gehalten längere Zeit zur Sporenbildung brauchen, muss ich als entschieden unrichtig bezeichnen. Ich habe bei mehr als hundert Präparaten, wo ich die dem Blute entnommenen Bacillen in den Paraffinzellen — nach dem Vorgange Koch's — im Brütofen cultivirte, nach 10 bis 15 Stunden trotz der im Brütofen herrschenden Dunkelheit die üppigste Sporenbildung — genau wie am Licht eintreten sehen.

Da das Verhalten der Milzbrandbacillen vom todten Thiere im Sauerstoff oder Luftstrome ganz gleich war und das gleiche Ergebniss, d. h. Auswachsen in die Fäden hatte, so will ich hier nur einen Versuch mittheilen, wobei gleichzeitig auch die Längenzunahme gemessen wurde.

5. Bacillen von einem in der Nacht gestorbenen Kaninchen wurden um 11 Uhr auf die bekannte Weise in die Recklinghausen'sche Kammer gebracht und Sauerstoff durchgeleitet. Um 2 Uhr wird die Verlängerung der Glieder deutlich bemerkbar. Es werden im Gesichtsfelde zwei Bacillen (I., II.) fixirt, wovon einer aus zwei Gliedern (a. b.) besteht. Die beobachteten Längenzunahmen waren folgende:

| um Uhr | I. a. | I. b. | II. |
|---|---|---|---|
| 2 | — 0.01330 | 0.01596 | 0.02926 |
| $2^1/_2$ | — 0.01892 | 0.02128 | 0.03724 |
| 3 | — 0.02394 | 0.02926 | 0.05320 |
| $3^1/_2$ | — 0.02926 | 0.03458 | 0.06517 |
| 4 | — 0.03325 | 0.03990 | 0.07448 |

Innerhalb von zwei Stunden war also die Längenzunahme eine 2.5- — oder innerhalb einer Stunde eine 1.25fache —.

Um $2^1/_2$ werden zwei andere Bacillen (III., IV.) fixirt, wovon wiederum einer aus zwei Gliedern (a. b.) besteht.

| um Uhr | III. a. | III. b. | IV. |
|---|---|---|---|
| $2^1/_2$ | — 0.02660 | 0.01596 | 0.04558 |
| 3 | — 0.03192 | 0.02025 | 0.05320 |
| $3^1/_2$ | — 0.04558 | 0.02394 | 0.06650 |
| 4 | — 0.04788 | 0.02660 | 0.07182 |

[1]) Toussaint, l. c., Taf. 1, Fig. 12.

[2]) Toussaint, l. c., pag. 54.

Die stündliche Zunahme aus diesen drei Bestimmungen würde also eine 1.12 fache sein. Um 4 Uhr wurde der Versuch unterbrochen und das Präparat über Nacht im Brütofen gelassen. Am folgenden Tage um 10 Uhr Morgens waren die Fäden bedeutend länger ausgewachsen und mit zahlreichen Sporen erfüllt. (Fig. 5*a* zeigt die im Sauerstoffstrome zu Fäden ausgewachsenen Bacillen — nach 5 stündiger Einwirkung dieses Gases — Fig. 5*b* ist dasselbe Präparat nach 16 stündigem Verweilen im Brütofen.)

Wenn wir die früher bei dem Theilungsvorgange bekommenen Resultate mit denen beim Auswachsen in die Fäden zusammenstellen, so geht daraus zur Evidenz hervor, dass das Wachsthum im letzten Falle ein viel intensiveres ist als im ersten, wo die stündliche Längenzunahme nur eine 0.85 fache war. Trotzdem haben diese Bestimmungen und Vergleiche nur einen relativen Werth. Sind die Fäden nämlich bereits in lange Fäden ausgewachsen, so nimmt auch die Intensität ihres stündlichen Wachsthums zu. Bei den Versuchen mit Ozon, die weiter unten beschrieben werden, habe ich die Wachsthumzunahme der bereits ziemlich langen Fäden in dem Zeitraume von 40 Minuten und in Intervallen von 10 Minuten gemessen und für drei verschiedene Fälle folgende Zahlen erhalten:

| I. | | | II. | | | III. | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Uhr | Min. | | Uhr | Min. | | Uhr | Min. | |
| 5 | 40 | — 0.04542 | 6 | 25 | — 0.06915 | 6 | 55 | — 0.06915 |
| 5 | 50 | — 0.05586 | 6 | 35 | — 0.09576 | 7 | 5 | — 0.09044 |
| 6 | — | — 0.06650 | 6 | 45 | — 0.10640 | 7 | 15 | — 0.10640 |
| 6 | 10 | — 0.08512 | 6 | 55 | — 0.11704 | | | |

Die stündliche Längenzunahme würde für I. eine 2.79- — für II. eine 2.33- — für III. eine 2.70 fache sein oder im Durchschnitt eine 2.61 fache.

### Versuche mit Kohlensäure.

Das Verhalten der Milzbrandbacterien im Kohlensäurestrome ist im Ganzen ziemlich ähnlich dem der Fäulnissbacterien. Pasteur und Joubert[1]) geben an, dass die Milzbrandbacillen durch Verweilen in Kohlensäure getödtet werden. Dieser allgemeine Ausspruch bedarf in sofern einer Restriction, als ich gefunden habe, dass das 5- bis 8 stündige Durchleiten der Kohlensäure bei der Bruttemperatur die Milzbrandbacillen nicht tödtet resp. ihre Infectionsfähigkeit nicht zerstört. Erst nach 24 stündigem Verweilen in einer in Glasröhren eingeschlossenen Kohlensäureatmosphäre gehen sie zu Grunde. —

Grossmann und Mayerhausen[2]) sahen, dass beim Durchleiten eines schwachen Kohlensäurestromes Anfangs eine Erhöhung der Beweglichkeit der Fäulnissbacterien eintritt, die jedoch nur kurze Zeit andauert und dann allmählich in Stillstand übergeht. Nach meinen Untersuchungen zeigen auch die Milzbrandbacillen im Kohlensäurestrome einen kurz andauernden Erregungszustand, der jedoch bald in den der absoluten Ruhe übergeht.

[1]) Pasteur und Joubert, Etude sur la maladie charbonneuse. Compt. rend. **84**, 900. 1877.

[2]) Loc. cit.

1. Von einem in der Nacht an Milzbrand gestorbenen Kaninchen wird um $10^3/_4$ Uhr Morgens ein Tropfen Blut mit Humor aqueus verdünnt und in der Recklinghausen'schen Kammer bei der Bruttemperatur und im Kohlensäurestrome beobachtet. Man sieht, dass die gegliederten Bacillen *sich theilen — jedoch ohne vorausgehende Verlängerung* der Glieder. Die losgetrennten Glieder zeigen schwache oscillirende Bewegung. Nach einer halben Stunde tritt bleibende Ruhe ein. Der Versuch wird 8 Stunden lang fortgesetzt — ohne dass irgend welche Aenderung der Bacillen eintritt. Um 7 Uhr Abends wird das Durchleiten der Kohlensäure unterbrochen und mit dem Tropfen aus der Recklinghausen'schen Kammer eine Maus geimpft. Die Maus war nach 22 Stunden in Folge des Milzbrandes todt.

2. Blut von einem vor $^3/_4$ Stunden an Milzbrand verendeten Kaninchen. Beginn der Kohlensäuredurchleitung um $9^3/_4$ Uhr Morgens. Eine Stunde lang dauert die Theilung der gegliederten Bacillen. *Kein Wachsen.* Hierauf absolute Ruhe. Nach 8 Stunden wird die Beobachtung unterbrochen und mit dem Blute eine Maus geimpft. Sie starb nach 28 Stunden an Milzbrand.

3. Das gleiche Ergebniss wurde noch in einem dritten Falle erhalten.

4. Ein milzbrandkrankes Kaninchen wird während der Agonie getödtet und sofort durch das Blut Kohlensäure durchgeleitet. Beginn des Versuches um 12 Uhr. Bis $6^1/_2$ Uhr absolut keine Veränderung an den Bacillen bemerkbar. Hierauf wird der Versuch unterbrochen und mit dem Tropfen eine Maus geimpft, die nach 30 Stunden an Milzbrand starb.

5. Ein in Agonie befindliches Kaninchen wird getödtet und das Blut sofort in die Recklinghausen'sche Kammer gebracht. Beginn der Kohlensäuredurchleitung um 12 Uhr. Die Bacillen zeigen wieder keine Veränderung, weder Quertheilung noch Losreissen, noch Auswachsen in die Fäden. Um 5 Uhr Abends, also nach 6 Stunden, wird der Versuch unterbrochen, mit dem ziemlich grossen Tropfen aus der Recklinghausen'schen Kammer zunächst eine Maus geimpft, welche nach 34 Stunden an Milzbrand zu Grunde ging. Ein anderer Theil des Tropfens wird in eine Paraffinzelle gebracht und in den Brütofen gestellt. Am folgenden Tage, d. i. nach 18 Stunden, ergiebt die Untersuchung, dass die Bacillen im Präparat zu langen Fäden mit Sporen ausgewachsen sind.

Diese Versuche mit Kohlensäure sind in doppelter Hinsicht bemerkenswerth — denn 1. findet hier bei Beginn des Versuches bei Bacillen, die schon nach dem Tode dem milzbrandkranken Kaninchen entnommen sind, Losreissen der Glieder statt — eine Erscheinung, die ich im Sauerstoffstrome und Luftstrome nie gesehen habe, und 2. tritt im Kohlensäurestrome nie eine Verlängerung (*Wachsthum*) der Bacillen ein. Aus allen Versuchen mit Kohlensäure ergiebt sich ferner, dass, wenn auch nach diesem Reizungszustand absolute Ruhe folgt — die Bacillen doch ihre Vitalität nicht verlieren, wie dies die erfolgreichen Impfungen beweisen. Möglich, dass die Bacillen nur so lange auf das ihnen schädliche Element „Kohlensäure" reagiren, als noch der Tropfen für sie verwendbaren Sauerstoff in der Recklinghausen'schen Kammer enthält. Ist auch dieser verbraucht, so stellt sich der Zustand absoluter Ruhe ein. Als ich — wie schon oben erwähnt — einige Cubikcentimeter

milzbrandbacillenhaltigen Blutes in ein gebogenes und an drei Stellen kugelig ausgeblasenes Glasrohr brachte, sodann eine Stunde lang durch das Blut Kohlensäure durchleitete und hierauf im Kohlensäurestrome das Rohr an beiden Enden zugeschmolzen habe, konnte ich mich überzeugen, dass längeres Verweilen in reiner Kohlensäureatmosphäre die Bacillen tödtet. Ich habe das zugeschmolzene Glasrohr in dem Brütofen 24 Stunden stehen gelassen und nach dieser Zeit dann das Blut mikroskopisch untersucht. Die Bacillen haben ihre scharfen Contouren verloren — sie scheinen aus kurzen rundlichen, körnigen, lose zusammenhängenden Stücken zu bestehen (siehe Fig. 8 *b*), genau wie das Koch als charakteristisch für die abgestorbenen Bacillen beschreibt. Ein mit diesem Blute geimpftes Kaninchen wurde nicht mit Milzbrand inficirt.

Die im Vorstehenden beschriebenen Versuche beweisen hinreichend, dass die Milzbrandbacillen durchaus Aërobien sind und ohne Sauerstoff resp. Luft sich auf keine Weise vermehren können. Ganz ähnlich verhalten sie sich im Blute kranker Thiere, indem sie demselben den für ihre Entwickelung und Vermehrung nothwendigen Sauerstoff entziehen. Ausserdem verursachen sie im Gefässsysteme mechanische Störungen. In Folge der durch sie bewirkten Embolien der Lungencapillaren entsteht eine Stauung im ganzen venösen System — von der rechten Herzkammer aus bis zu den kleinsten venösen Zweigen. Die durch die Gewebe ausgeschiedene Kohlensäure häuft sich im Blute immer mehr an und erzeugt zunächst Asphyxie, welcher der Tod folgt. Dafür sprechen sowohl der Verlauf der Krankheit als auch die Ergebnisse der Section.

## Versuche mit Ozon.

Das Verhalten der Milzbrandbacterien gegen ozonisirten Sauerstoff oder Luft ist durchaus verschieden von dem der gewöhnlichen Fäulnissbacterien. Während die letzteren durch ozonisirten Sauerstoff in relativ kurzer Zeit getödtet werden, entwickeln und vermehren sich im Ozon die Milzbrandbacterien ganz als ob sie sich in atmosphärischer Luft oder Sauerstoff befänden. Ich muss hier hervorheben, dass, weil meine Versuchseinrichtung eine andere war, ich die Versuche der Herren Grossmann und Mayerhausen mit Sauerstoff und Ozon in meinem Apparate einer wiederholten Prüfung unterworfen habe. Bezüglich Sauerstoffs kann ich ihre Angaben in jeder Hinsicht bestätigen. Mit Ozon sind unsere Beobachtungen insofern different, als ich in mehr als zehn Versuchen das Nachlassen der Bewegungen wohl in den ersten 15 Minuten, aber den völligen Stillstand der Fäulnissbacterien im ganzen Tropfen der Recklinghausen'schen Kammer erst nach 20 bis 30 Minuten eintreten sah.

Um Ozon zu erzeugen, benutzte ich dieselben Apparate, wie sie von den Herren Nencki und Giacosa bei ihren Versuchen über die Oxydation des Benzols zu Phenol angewendet wurden. Mit dem Apparate *A* (s. Fig. 13) wurde mittelst eines gut schliessenden Korkes ein Geissler'scher Ozonisator (*C*) verbunden. Der durch (*g*) eintretende Sauerstoff passirte den Ozonisator — sodann das Rohr *A*, das natürlich in diesem Falle nicht erhitzt wurde und trat in die Recklinghausen'sche

Kammer ein. Die dunkle elektrische Entladung geschah mittelst eines ausgezeichneten Ruhmkorff'schen Apparates, in welchem der Strom durch sechs Bunsen'sche Elemente erzeugt wurde. Der aus der Kammer austretende Sauerstoff hatte einen starken Ozongeruch, der namentlich bei stundenlanger mikroskopischer Untersuchung des Präparates sich in lästiger Weise kund gab. Die deletäre Wirkung des Ozons auf die Fäulnissbacterien war am schönsten — wie dies schon Grossmann und Mayerhausen angeben — dann zu sehen, wenn bei Beginn der Versuche $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde lang der Sauerstoff durch die Recklinghausen'sche Kammer durchgeleitet wurde, worauf immer eine beschleunigte Bewegung und Theilung der Fäulnissbacterien eintrat. Wurde plötzlich der Inductionsapparat in Gang gesetzt, während der Sauerstoff weiter fortging, so sah man sofort Verlangsamung der Bewegung und nach 20 bis 30 Minuten einen absoluten Stillstand bei der Durchmusterung des ganzen mikroskopischen Präparates. Total verschieden war das Verhalten der Milzbrandbacterien — wie dies aus folgenden Versuchsprotokollen hervorgeht.

1. Von einem um 3 Uhr an Milzbrand gestorbenen Kaninchen wird ein Tropfen Blut mit Humor aqueus vermischt und das Präparat in der Recklinghausen'schen Kammer bei Bruttemperatur dem ozonisirten Sauerstoffstrome ausgesetzt. Sämmtliche im Gesichtsfelde sichtbaren Bacillen wachsen zu Fäden. Um 7 Uhr, wo die Fäden bereits über das Gesichtsfeld ausgewachsen sind, wird der Versuch unterbrochen. Die mit dem Tropfen aus der Recklinghausen'schen Kammer geimpfte Maus erlag nach 40 Stunden den Folgen der Infection.

2. Blut vom Kaninchen, das um $7^1/_2$ Uhr Morgens an Milzbrand zu Grunde ging. Beginn der Durchleitung des ozonisirten Sauerstoffs um 12 Uhr. Schon nach einer Stunde sieht man das Auswachsen in die Fäden, indem die Bacillen doppelt bis dreifach so lang werden. An den neu ausgewachsenen Fäden ist deutlich Quertheilung zu beobachten. Auch fand ich, dass einige Glieder nach der Quertheilung durch einfache Verschiebung sich von einander trennen. In den späteren Stunden war jedoch nur das Auswachsen in die Fäden sichtbar. Um 7 Uhr Abends wird der Versuch unterbrochen und das Präparat in den Brütofen gestellt. Am folgenden Tage Morgens enthalten einige sehr lange Fäden deutliche Sporen.

Vier noch weitere Versuche mit ozonisirtem Sauerstoff ergaben das gleiche Resultat, nämlich Auswachsen in die Fäden.

3. Ein milzbrandkrankes Kaninchen wird während der Agonie getödtet und ozonisirter Sauerstoff durch das Blut durchgeleitet. Beginn des Versuches um $11^1/_2$ Uhr. Schon in der ersten Stunde sieht man Verlängerung der Bacillen, sodann Quertheilung und Lostrennung der Segmente durch Verschiebung genau so wie im Luft- oder Sauerstoffstrome. Gegen Ende des Versuches, nach mehrstündigem Durchleiten des Ozons, sind einzelne Bacillen in Fäden ausgewachsen. Um 6 Uhr wird der Versuch unterbrochen.

Wie zu erwarten war, wuchsen und vermehrten sich die Bacillen in ozonisirter Luft wie im ozonisirten Sauerstoff. Statt mehrerer Versuche will ich nur einen anführen, wo in dem mehrere Stunden nach dem Tode des Kaninchens

entnommenen Blute die Bacillen im Strome ozonisirter Luft nicht in die Fäden auswuchsen, sondern sich quertheilten und durch leise Verschiebung lostrennten. Auf Tafel VI, Fig. 6 ist die Theilung der Bacillen in ozonisirter Luft abgebildet.

Das merkwürdige Ergebniss der Versuche mit Ozon hat mich zuerst auf die Vermuthung gebracht, dass es vielleicht Folge einer fehlerhaften Versuchsanordnung war. Der Einwand lag nahe, dass das Ozon nur den Rand und nicht das Centrum des capillären Raumes berühre, allerdings sprachen entschieden dagegen die Versuche mit Sauerstoff und Kohlensäure, die, in der gleichen Kammer ausgeführt, so verschiedenen Effect auf die Bacillen ausübten. Dass das Ozon in den ganzen Tropfen der Kammer diffundirt, zeigten ferner die Versuche mit den Fäulnissbacterien, wo nach halbstündiger Durchleitung regelmässig ein absoluter Stillstand der Fäulnissbacterien erfolgte. Dass wirklich Ozon das Leben der Milzbrandbacillen nicht hindert, sondern eher fördert, geht mit Sicherheit aus folgenden Versuchen hervor.

Durch 2 bis 3 ccm in einem Reagensröhrchen befindlichen milzbrandbacillenhaltigen Blutes wurde eine halbe bis eine ganze Stunde lang stark ozonisirter Sauerstoff durchgeleitet — hierauf Kaninchen mit dem Blute geimpft. In mehreren solchen Versuchen gingen die geimpften Thiere regelmässig an Milzbrand zu Grunde. In einem Versuche sogar wurden 2 ccm Milzbrandblut mit Humor aqueus verdünnt, in einen Dreikugelapparat, wie er bei Stickstoffbestimmungen nach Will und Varrentrapp benutzt wird, gebracht und durch dasselbe 7 Stunden lang ozonisirter Sauerstoff bei Zimmertemperatur durchgeleitet. Nach so langer Behandlung mit Ozon wurden fast alle Blutkörperchen zerstört, die Farbe der Flüssigkeit wurde olivengrün und durch spectroskopische Untersuchung konnte man nur Spuren von Oxyhämoglobin in der Lösung nachweisen. Die Bacillen dagegen zeigten keine Veränderung, sie waren homogen, glashell, ohne jede körnige, auf Absterben deutende Trübung. Mit diesem Blute geimpfte Thiere — ein Kaninchen und eine Maus — sind an Milzbrand nach 48 Stunden gestorben.

Das Verhalten der Milzbrandbacillen gegen Ozon klärt uns über manche bis jetzt unverständliche Punkte auf, die die durch Spaltpilze bewirkten Infectionskrankheiten betreffen. Wie schon Eingangs erwähnt, können die gewöhnlichen Fäulnissbacterien von den Athmungs- und Verdauungsorganen aus in die nächstliegenden Drüsen gelangen. Uebereinstimmend wird hervorgehoben, dass weder in den gesunden Geweben noch im Blute entwickelte Formen der Spaltpilze sich finden. Auch betonen alle Beobachter, dass im circulirenden Blute die wenigsten oder gar keine Sporen der Spaltpilze zu finden seien. Nun wissen wir aber, dass die Oxydationen im Thierkörper genau so geschehen — wie wir sie ausserhalb desselben durch activen Sauerstoff oder Ozon bewirken können. Ozon tödtet die gewöhnlichen Fäulnissbacterien in jedem Stadium ihrer Entwickelung und nichts liegt näher als die Annahme, dass die Keime der Fäulnissbacterien deshalb nicht zur Entwickelung und zum Leben im Blute resp. Geweben kommen, weil der daselbst befindliche active Sauerstoff sie sofort zerstören würde. Man kann demnach vermuthen, dass nur solche Formen der Spaltpilze, welche, gleich den

Milzbrandbacillen, durch Ozon nicht verändert werden, in den Geweben und im Blute sich entwickeln können und durch ihren Lebensprocess resp. specifische Producte ihres Stoffwechsels oder auf irgend eine andere Weise die verschiedenen Formen der Infectionskrankheiten bewirken.

Im Anschluss an diese Untersuchungen will ich noch einige von mir beobachtete Formen der Milzbrandbacillen beschreiben, die ich alle als krankhafte und Absterbungsformen bezeichnen möchte. — Ich sah sie namentlich dann auftreten, wenn die Temperatur in der Recklinghausen'schen Kammer über 50° C. war oder das Präparat eintrocknete, ferner bei saurer Reaction der Nährlösung oder nach längerem Verweilen in der Kohlensäureatmosphäre. Ist die Reaction der Nährlösung sauer, wie ich das wiederholt bei meinen Vorversuchen mit Ozon beobachtet habe, so wachsen die Bacillen nicht in Fäden, sondern man bemerkt zuerst eine bedeutende Verdickung der Stäbchen, sodann end- oder seitenständige knospenartige Anschwellungen, welche auswachsen und so ramificirte Formen bilden, wie Fig. 7 (*a b c*) darstellt. Nach mehreren Stunden zeigen sich in den Anschwellungen körnige, sporenähnliche Gebilde. Wurden diese Präparate 10 bis 20 Stunden lang im Brütofen gehalten, so zeigte sich keine wesentliche Veränderung, keine deutliche Sporenbildung und nur der Inhalt dieser verästelten Gebilde wurde mehr granulirt. Kaninchen oder Mäuse, mit diesen Formen geimpft, blieben stets gesund. In seiner Monographie hat Toussaint[1]) den meinigen ähnliche Formen abgebildet und als sporanges polyspores bezeichnet. Sie wurden durch Culturen von Milzbrandsporen im Hundeblutserum erhalten. Toussaint giebt jedoch an, dass die in seinen Sporangien entstandenen Sporen gewöhnliche Milzbrandbacillen reproduciren.

Diese Arbeit wurde auf Veranlassung des Herrn Prof. Nencki und in dessen Laboratorium ausgeführt und ich spreche für seine freundliche Hülfe ihm meinen wärmsten Dank aus.

Bern, im Juli 1880.

---

Erklärung der Tafel VI.

Fig. 1, 2 und 3. Vermehrung der Milzbrandbacillen durch Theilung im Sauerstoffstrome.
Fig. 4. Desgleichen im Luftstrome.
Fig. 5. *a* Zu Fäden ausgewachsene Bacillen im Strome ozonisirten Sauerstoffs — nach 5 Stunden. *b* Das gleiche Präparat nach 16stündigem Verweilen im Brütofen.
Fig. 6. Theilung der Bacillen im Strome ozonisirter Luft.
Fig. 7. Abnorme Formen der Milzbrandbacillen im Strome ozonisirter Luft — in saurer Nährlösung. *a b c* sind dasselbe Präparat nach 2 bis $3^1/_2$ und 5 Stunden.
Fig. 8. *a* Milzbrandbacillen, durch zufälliges Erhitzen des Präparates auf 50° C. verändert. *b* Körniger Zerfall.

---

[1]) Loc. cit., Tafel 1, Fig. 15.

# Zur Kenntniss der Skatolbildung

von

**M. Nencki.**

Zeitschr. f. physiol. Chem. 4, 371. — (Der Redaction zugegangen am 10. Juli 1880.)

In verschiedenen, aus meinem Laboratorium hervorgegangenen Publicationen wurde die Bildung und die Darstellung des Skatols beschrieben. Wir haben Skatol durch Schmelzen des Eiweisses mit Kali, aus menschlichen Excrementen und durch lange Fäulniss des Eiweisses bei niedriger Temperatur erhalten. Alle diese Darstellungsmethoden aber waren zu umständlich oder die Ausbeute, wie z. B. beim Schmelzen des Eiweisses mit Kali, zu gering. Die Herren E. und H. Salkowski[1]) erhielten in zwei Versuchen nach zehntägiger Fäulniss des Fleisches bei 40° C. Skatol; aber das Auftreten des Skatols war nicht constant. In anderen Versuchen erhielten sie ausschliesslich Indol und höchstens Spuren von Skatol. Sodann sah Dr. Brieger[2]), dass bei der Fäulniss des käuflichen Blutalbumins mit wenig Pankreas bei 36° C. nach 6 bis 10 Tagen neben Indol auch Skatol gebildet werde. Die Trennung der beiden Substanzen ist aber mit grossen Verlusten verbunden und reines Skatol gehört noch immer zu den seltensten chemischen Präparaten. Ich habe nun eine Darstellungsweise des Skatol gefunden, die es ermöglicht, kleine Mengen dieser Substanz mit Leichtigkeit zu beschaffen.

In der Absicht, die Fäulnissproducte des Gehirns zu untersuchen, habe ich 500 g Rinderhirn mit 5 Liter Wasser, das mit Phosphorsäure schwach angesäuert wurde, bei 35 bis 40° C. der Fäulniss überlassen. Schon am dritten Tage machte sich der charakteristische Skatolgeruch bemerkbar. Die Reaction der Flüssigkeit wurde durch zeitweiligen Zusatz geringer Mengen $PO_4H_3$ sauer erhalten. Nach 8 Tagen wurde die Flüssigkeit destillirt und Proben des stark nach Skatol riechenden Destillates färbten sich mit einem Tropfen rauchender Salpetersäure nur schwach rosaroth, ein Zeichen, dass nur Spuren von Indol vorhanden waren. Aus dem gesammten filtrirten Destillate wurde durch Zusatz von concentrirter Pikrinsäurelösung und Salzsäure die Pikrinsäureverbindung in rothen Krystallnadeln abgeschieden, welche, auf Fliesspapier getrocknet und sodann mit wenig wässerigem Ammoniak destillirt, fast reines Skatol lieferte. Die abfiltrirten und nur einmal aus heissem Wasser umkrystallisirten Krystalle hatten den Schmelzpunkt bei 95° C. und zeigten alle Reactionen des Skatols. Da das Skatol im menschlichen Dickdarm, dessen Inhalt meistens sauer reagirt, entsteht, so habe ich den Versuch in der Weise wiederholt, dass ich 500 g Ochsenpankreas mit 5 Liter Wasser 8 Tage lang faulen liess und stets für die saure Reaction der Flüssigkeit durch Zusatz von verdünnter

[1]) Ber. **12**, 651.

[2]) Ebenda **12**, 1986.

Phosphorsäure Sorge trug. Als hierauf destillirt und das Destillat wie oben verarbeitet wurde, erhielt ich kein Skatol, sondern nur Indol, das einmal aus heissem Wasser umkrystallisirt bei 52° C. schmolz.

Die saure Reaction der faulenden Masse schien also keinen Einfluss auf die Skatolbildung zu haben. Ich überliess daher 750 g Hirnsubstanz mit 6 Liter Wasser bei 35 bis 40° C. der Fäulniss. Die in den ersten 30 Stunden schwach saure Reaction der Flüssigkeit wurde alkalisch und blieb auch so bis zum achten Tage, wo sie, wie oben verarbeitet, reines Skatol lieferte. Der Versuch wurde mit gleichem Erfolge noch einmal wiederholt. Betonen möchte ich, was mir von wesentlicher Bedeutung für die Skatolgewinnung zu sein scheint, dass in diesen Versuchen die Temperatur der faulenden Flüssigkeiten durchschnittlich 36° C. war und nie über 40° C. stieg. Es ist zu erwarten, dass in den Fällen, wo nicht Skatol, sondern Indol gebildet wird, noch andere, bis jetzt noch nicht isolirte Fäulnissproducte auftreten werden. Ich setze diese Untersuchungen fort und werde seiner Zeit die erhaltenen Resultate, sowie auch die dabei auftretenden Mikroorganismen beschreiben.

Bern, im Juli 1880.

---

# Ueber die angebliche Umwandlung des Eiweisses in Fett beim Reifen des Roquefortkäse

von

**Nadina Sieber.**

Journ. f. prakt. Chem. 21, [illegible]3.

Unter dem Namen „fettige Degeneration“ oder „Fettmetamorphose“ wird in den Lehrbüchern der Pathologie eine Veränderung der Gewebe beschrieben, welche nach allen Störungen der normalen Ernährung, insbesondere durch Behinderung der Circulation und Innervation, eintritt. Sie betrifft Zellen, Fasern, Membranen und Grundsubstanzen. Es treten erst nur wenige feine Fettkörnchen auf, dann immer mehr, bis sie dicht an einander liegen; die Zellen werden dadurch in kugelige Aggregate von Fettkörnchen verwandelt: Körnchenzellen. Kern und Membran gehen ebenfalls in Fett unter, und endlich bleibt nur noch ein Kernchenhaufen, welcher endlich aus einander fällt. Oder auch erscheint das Fett zuerst in den Zellen in Form kleiner und grosser Tropfen, welche meist unter einander zusammenfliessen; das Resultat ist Füllung der Zellen mit Fett, bis zur vollständigen Umwandlung in eine Fettzelle, ohne dass hierauf nothwendig Untergang der Zelle folgen müsste [1]. — Diese Erscheinung — „die fettige Metamorphose“ — wird von den meisten Pathologen, wie schon der Name andeutet, so erklärt, dass das Eiweiss der Gewebe und des Zellinhaltes sich in Fett verwandele — „zu Fett degenerire“.

[1]) A. Förster, Lehrbuch der pathologischen Anatomie S. 124.

Als Stütze dieser Erklärung werden in der Regel dabei verschiedene, namentlich in der älteren Literatur verzeichnete Angaben angeführt, denen zufolge das Eiweiss sich in Fett verwandelt. Zu diesen Angaben gehört unter anderen die Production des Wachses durch die Bienen, angeblich aus dem Eiweiss des Pollens, ferner die sogenannte Adipocire (Leichenfettbildung) und die Angabe von Blondeau, wonach in den Kellern zu Roquefort das Eiweiss des dort aufbewahrten Käses durch die in demselben enthaltenen Schimmelpilze in Fett verwandelt werde.

Aus den Untersuchungen v. Schneider's[1]) ergiebt es sich, dass die im Pollen enthaltene geringe Eiweissmenge durchaus nicht ausreicht, um aus derselben die Menge des gebildeten Wachses zu erklären, und dass jedenfalls der Zucker im Honig zur Wachsbildung verwendet wird. In Betreff der Leichenfettbildung fand Secretan[2]) im hiesigen Laboratorium, dass aus völlig entfettetem Fleisch oder Eiweiss beim Liegen unter der Erde, oder unter Wasser, unter keinen Umständen Fett entsteht. Die negativen Resultate Secretan's wurden durch die positiven Beobachtungen des Prof. Nencki ergänzt[3]), nach dessen Versuchen das Fettgewebe von allen thierischen Geweben am längsten der Fäulniss widersteht. Während der Muskel ganz in lösliche Producte, die allmählich weggeschwemmt werden, umgewandelt wird, bleibt das Fett, namentlich im kalkreichen Boden oder Wasser, wo das Fett zum geringen Theil in Kalkseifen verwandelt wird, als eine voluminöse consistente Masse um die Knochen herum, einer lockeren Gypshülle vergleichbar, zurück. Bei oberflächlicher Betrachtung solcher Leichentheile, namentlich Kinderleichen mit fettreichem Unterhautzellgewebe, hat es allerdings den Anschein, als ob um den Knochen herum statt Muskeln Fett aufgelagert wäre. Dies hat jedenfalls die irrige Auffassung veranlasst, als seien die Muskeln in Fett verwandelt worden.

In Folgendem soll gezeigt werden, dass auch die Angabe Blondeau's — die Umwandlung des Caseïns zu Fett im Roquefortkäse betreffend — eine falsche ist.

Für einen aufmerksamen Leser genügt allerdings nur das Durchlesen der Blondeau'schen Abhandlung, um auf der Stelle das Unhaltbare und Falsche in seinen Angaben zu erkennen. Auch hat ein Jahr später Brassier[4]) durch sehr sorgfältige Analysen einerseits frischen, andererseits alten Käses (nach 2-, 4-, 7 monatlichem Liegen im Keller) die Versuche Blondeau's nicht allein nicht bestätigt, sondern eher das Gegentheil gefunden. Leider hat Brassier unterlassen, die Arbeit Blondeau's einer eingehenden Kritik zu unterwerfen. Mit der kurzen Bemerkung, es seien „expériences, qui sont loin d'être à l'abri de toute critique", geht er über die Arbeit Blondeau's hinweg. Neuerdings erklärte Boussingault in einer Versammlung der „Societé centrale d'agriculture de France" 1878: er müsse die oft ausgesprochene verkehrte Ansicht verwerfen, dass sich bei der Reifung des Roqueforter Käse ein Theil des Proteïns in Fett verwandele.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **162**, 256.

[2]) Archives des Sciences de la Bibliothèque Univ. Genève 1876. — Dieser Band S. 216.

[3]) Artikel „Eiweisskörper" in Fehling's neuem Handwörterbuch der Chemie **2**, 1174. — Dieser Band S. 352.

[4]) Ann. chim. phys. [4] **5**, 1865.

Darin, dass Brassier die Fehlerquellen in der Publication Blondeau's nicht einzeln hervorhob, ist wohl die Ursache zu suchen, weshalb die Untersuchungen Brassier's nicht als directe Widerlegung der Angaben Blondeau's betrachtet wurden; denn es wurde nicht erörtert, „ob etwa einflussreiche Unterschiede aus der Bereitung und aus den Verhältnissen des Aufbewahrungsortes resultiren (Meissner, Berichte über die Fortschritte der Anatomie und Physiologie im Jahre 1865, S. 323)". Auch Dr. W. Fleischmann [1]) in seinem sonst so vortrefflichen Werke, indem er sich auf die Arbeit Blondeau's beruft, sagt: „Die Frage, ob sich während der Reifung fetter Weichkäse unter der Mitwirkung von organisirten Fermenten aus den Proteïnkörpern Fett abspalten könne, ist bis jetzt noch immer eine offene."

Bei der Lectüre der Arbeit Blondeau's ist sofort auffallend der sehr niedrig gefundene Wasser- und der ebenfalls ausserordentlich geringe Fettgehalt im frischen, nicht eingekellerten Roqueforter Käse. Man findet aber bald die Erklärung hierfür, wenn man den von Blondeau eingeschlagenen Gang der Analyse, den ich hier wörtlich mittheile [2]), verfolgt: „Nous commençâmes par dessécher le fragment (100 g) de fromage sur lequel nous opérions, en le plaçant sous une cloche à côté d'un vase, contenant de l'acide sulfurique (wie lange der Käse über $SO_4H_2$ getrocknet worden und ob bis zu constantem Gewichte, wird nicht gesagt); puis, après avoir déterminé la quantité d'eau qu'il abandonnait dans ces circonstances (der Käse verlor 11.84 Proc. Wasser), nous le reprîmes par de l'eau distillée, afin de connaître la nature et la quantité de matière qu'il pouvait céder à ce liquide (die im Wasser lösliche Materie war 0.88 g Milchsäure). Après l'avoir desséché de nouveau, nous le traitâmes par un mélange d'alcool et d'éther, afin de le dépouiller des matières solubles dans ces liquides (ob so lange die Extraction fortgesetzt wurde, bis im Alkohol und Aether nichts mehr überging, wird nicht gesagt). Le poids de cette matière grasse était 1.85 g (für 100 g frischen Käses)."

Jedem, der Wasserbestimmungen im Käse ausgeführt hat, ist es gewiss bekannt, dass eine so grosse Menge einer so eiweissreichen Materie durch blosses Liegen im Exsiccator über $SO_4H_2$ auch nach Monaten ihr Wasser nicht vollständig verliert. Die Wasserbestimmung im Käse müsste unter allen Umständen durch Trocknen im Luftbade bei 110 bis 120° geschehen, und es ist kein Zweifel, dass die Blondeau'sche Wasserbestimmung eine ungenaue ist.

Ein Käse, der aus theilweise abgerahmter Milch bereitet wird, mit nur 1.85 Proc. Fett, ist ein Ding der Unmöglichkeit. Nach der Zusammenstellung von König [3]) enthalten selbst die Magerkäse (holländischer Nögelobst, Kümmel- und Vorarlberger Käse) im Mittel noch 8.41 Proc. Fett.

Auf Grund der Wasserbestimmung des Alkoholätherextractes und der in Wasser löslichen Milchsäure glaubt Blondeau, dass der frische, nicht eingekellerte Roqueforter Käse folgende Zusammensetzung habe:

---

[1]) „Das Molkereiwesen", Braunschweig 1879.

[2]) Ann. chim. phys. [4] **1**, 210. 1864.

[3]) Chemische Zusammensetzung der Nahrungs- und Genussmittel. Berlin 1879, S. 48.

| | |
|---|---|
| Caseïn | 85.43 |
| Fett | 1.85 |
| Milchsäure | 0.88 |
| Wasser | 11.84 |
| | 100.00 |

Wie man sieht, ist das Caseïn nicht aus direct gefundenem Stickstoff, sondern aus procentischer Differenz nach Abzug des Wassers, Fettes und der Milchsäure berechnet worden. Asche wurde überhaupt nicht bestimmt, und wir lernen hier zum ersten Male einen ganz aschefreien Käse kennen. Blondeau hielt es jedoch für nöthig, wahrscheinlich um seine Gewissenhaftigkeit zu zeigen, den als Caseïn angeführten Theil einer Elementaranalyse zu unterwerfen. Die mitgetheilten Zahlen sind für den Werth der ganzen Arbeit so charakteristisch, dass ich sie hier in Abschrift mittheilen will (s. l. c. S. 211).

„I. 0.467 g de substance nous ont donné 1.075 d'acide carbonique et 0.325 d'eau.

II. 0.539 g de substance nous ont donné 0.098 d'azote.

De ces résultats on déduit en centièmes

| | | Dumas et Cahours |
|---|---|---|
| Carbone | 62.95 | 63.15 |
| Hydrogène | 7.70 | 7.89 |
| Azote | 18.18 | 18.42 |
| Oxygène | 11.17 | 10.54 |
| | 100.00 | 100.00 |

Cette composition est tout à fait analogue à celle assignée par MM. Dumas et Cahours à la caséine."

In Wahrheit aber erhielten Dumas und Cahours[1]) für das Caseïn der Schafmilch 53.52 Proc. C, 7.07 Proc. H und 15.80 Proc. N. Indem Blondeau seine Zahlen niederschrieb, hat er gewiss keine besondere Kenntniss der Eiweisssubstanzen seinen Lesern zugemuthet. Der Erfolg hat ihn nicht getäuscht. So hat z. B. Prof. Meissner[2]) in seinem Bericht über die Blondeau'sche Arbeit noch besonders erwähnt, dass der in dem frischen Käse „als Caseïn aufgeführte Theil eine Zusammensetzung ergab, welche diese Bezeichnung rechtfertigte".

Die Zahlen Blondeau's lassen eine zweifache Deutung zu: entweder wurde die Elementaranalyse richtig ausgeführt, wobei aber das von ihm analysirte Caseïn nur stark mit Fett vermengt war (wofür der gefundene hohe Kohlen- und Wasserstoffgehalt spricht), oder die Elementaranalyse ist unrichtig gemacht, worauf der merkwürdig hohe Stickstoffgehalt hinweist. Dass Blondeau viel Phantasie gelten lässt, geht aus der naiv hervorgehobenen Uebereinstimmung seiner Analyse mit den Zahlen von Dumas und Cahours hervor.

Aus dem Mitgetheilten ergiebt sich, welchen Werth die nach gleichem Schema ausgeführten Analysen des eingekellerten Käses haben können. So brauchte Blondeau den Fettgehalt des Käses nach einmonatlichem Liegen nur gleich

[1]) Ann. chim. phys. [3] **6**, 418.

[2]) Bericht für 1864, S. 340.

16.1 Proc. zu setzen, was noch immer für Roqueforter Käse eine zu niedrige Zahl ist, um gegenüber dem frischen Käse, den er nur mit 1.85 Proc. bedachte, schon eine kolossale Zunahme von Fett zu erhalten.

Obgleich das Durchlesen der Blondeau'schen Arbeit hinreichend ist, um die Unzulässigkeit seiner Behauptungen einzusehen, so war es doch bei der Wichtigkeit der Frage wünschenswerth, Analysen von frischem und von altem Roqueforter Käse auszuführen, um den wirklichen Sachverhalt zu eruiren, und vielleicht auch über die bis jetzt wenig bekannten Veränderungen, welche der Käse beim Reifen erleidet, Aufklärung zu erhalten.

Bevor ich meine Analysen mittheile, will ich nur wenige Worte über die Fabrikation des Roqueforter Käses vorausschicken. Die Angaben entnehme ich dem Buche von Pourieau[1]) und einer Abhandlung des Director Schatzmann[2]) in Lausanne: „Ueber die Käseindustrie von Roquefort".

Roquefort liegt im südlichen Frankreich (Departement Aveyron) am südlichen Abhange der Hochebene des Larzac. Die genannte Hochebene besteht aus Kalkboden (Juraformation) mit häufigen Einlagerungen von Thon und Mergel; sie besteht aus theils zerrissenen Felswänden, scharf abgegrenzten Terrassen, theils aus mehr oder minder geneigten Abhängen. Die Keller von Roquefort waren ursprünglich natürliche Höhlen, die man einfach eingemauert hat; später, als der Bedarf an Räumlichkeiten zunahm, erweiterte man die Höhlungen und Spalten.

Die Keller sind grösstentheils Besitzthum der „Societé des Caves réunies", welche ungefähr zwei Drittel des sämmtlichen echten Roquefort in den Handel bringt; zum Theil sind sie im Besitz kleinerer Gesellschaften und einzelner Privaten. Jeder Keller besteht aus drei Räumlichkeiten: zuerst, zu ebener Erde, ist die Wagekammer (Le poids), wo die Käse von den Bauern abgegeben, sortirt und gewogen werden. Unter dem Wagezimmer befindet sich die Salzkammer (Le saloir). (Die Käse werden ungesalzen von den Bauern abgeliefert.) „Nun folgen nach der Tiefe hin die eigentlichen Kellerräume und zwar in fünf verschiedenen Etagen über einander. Man hat dazu die natürlichen unterirdischen Höhlungen mit den Spalten (Luftzügen) in verschiedener Weise benutzt, dieselben künstlich ausgeweitet und durch gemauerte Wände in verschiedene Kammern getheilt. Es ist leicht begreiflich, dass in diesen kolossalen Räumen, je nach der höheren oder tieferen Lage, je nach der grösseren oder geringeren Entfernung der Abtheilungen von einem Luftzuge, oder einem Feuchtigkeitsherde, sehr verschiedene Temperatur- und Feuchtigkeitsgrade herrschen."

Der Käse wird aus Schafmilch bereitet, und die Zahl der Schafe in Roquefort und Umgebung schätzt Schatzmann gegenwärtig auf 700000 Stück, wovon 450000 milchgebende sind. Die Verarbeitung der Milch auf den Bauernhöfen kann hier füglich übergangen werden, nur ein Umstand, der bei Roquefortkäserei eine grosse und, was den Geschmack anbetrifft, die Hauptrolle spielt, sei hier hervorgehoben. Er betrifft das schimmelige Brot, welches dem zerriebenen Käseteig

---

[1]) „La Laiterie". Paris, Librairie Audot, Niklaus et Cie.

[2]) Zeitschrift für Viehhaltung und Milchwirthschaft, von Dr. Klenze. 1879.

zugesetzt wird. „Die Negotianten, welche die Käse behandeln, legen auf die Zubereitung des Schimmelbrotes einen grossen Werth und fabriciren es daher selbst, um es unter die Bauern zu vertheilen; sie verwenden dazu gleiche Gewichtsmengen Weizen-, Sommer- und Wintergerstenmehl, mischen dasselbe mit einem sehr starken Sauerteig, den sie in grosser Quantität zusetzen (1 hl auf 23 Pfd. Teig) und mit einem Liter Weinessig. Nachdem man die Teigmasse sehr lange und stark bis zum Hartwerden geknetet hat, wird sie sehr gut gebacken, und an einem eher warmen als kühlen Orte aufbewahrt. Ist der Schimmel im ganzen Laibe gleichmässig vertheilt, so wird die Kruste vom Brot weggeschnitten und der Rest zu einem feinen Pulver zermalmt, die grösseren Brosamen werden durch ein Sieb beseitigt. Man bringt zunächst in eine Form aus glasirtem Thon (welche mit kleinen Löchern versehen ist) eine Schicht Käse, die ungefähr den dritten Theil der Form einnimmt, streut dann Schimmelbrot darüber, giebt eine zweite Schicht Käse, die man gleichfalls bestreut, und füllt dann vollständig auf, und zwar bedeutend über den Rand der Form. Um die Masse gut zu verbinden und mit dem Brot zu mischen, wird sie gut mit den Händen eingepresst [1].“ Der Schimmelpilz in dem Käse entsteht also nicht während des Verbleibens in den Kellern, wie dies vielfach irrthümlich geglaubt wird, sondern wird dem frischen Käseteig noch vor der Ablieferung an den Kellerbesitzer von den Bauern zugesetzt.

Durch die freundliche Vermittelung des Herrn Prof. Dor in Lyon erhielt ich von Herren Mialane et Cie. (Propriétaires des Caves à Roquefort) einen frischen Roqueforter Käse, wie er von den Bauern hergestellt, also bereits mit dem Schimmel versetzt, aber noch nicht eingesalzen, an die Kellerbesitzer abgeliefert wird. Da die Sendung per Post und noch in kalter Jahreszeit (im April) effectuirt wurde, so erhielt ich ihn ganz frisch und ohne jedes Anzeichen einer eintretenden Gährung. Der frische Käse von $2^1/_3$ kg Gewicht hatte einen angenehmen milden Geschmack und schwach saure Reaction. Die mit Schimmel versetzten Partien, mit etwas Wasser angerührt, zeigten bei der mikroskopischen Untersuchung fast nur Mycelien und Sporen des „Penicillium glaucum“, daneben in spärlicher Menge Körnchen, Schollen, die im Aussehen aufgequollenen Stärkekörnern ähnlich waren. In der That, als die schimmeligen Partien des Käses mit stark verdünnter $SO_4H_2$ erwärmt und sodann mit Jodtinctur versetzt wurden, färbte sich die Flüssigkeit blau.

Der Gang der Analysen dieses und des folgenden Käses war nun folgender:

Sowohl aus der Oberfläche wie aus der Mitte wurden mehrere grössere Stücke herausgeschnitten, in einem Porcellanmörser zerrieben und sofort in für die verschiedenen Bestimmungen erforderlichen Quantitäten abgewogen. In einer Portion wurde der Gehalt an Wasser und Asche, in einer zweiten der Gehalt an Stickstoff und in einer dritten, grösseren, der Gehalt an Fett und Caseïn bestimmt. Um die Fehlergrenzen der Methode kennen zu lernen, wurden die Bestimmungen doppelt ausgeführt.

Die erhaltenen Zahlen sind nun folgende:

---

[1]) Schatzmann, a. a. O. S. 16.

### Wasser und Asche.

1. 1.8108 g Käse im Platintiegel im Luftbade bei 115 bis 120° bis zu constantem Gewichte getrocknet, verloren 0.8999 g oder 49.69 Proc. Wasser. Die trockene Substanz bis zu constantem Gewichte geglüht hinterliess 0.0316 g Asche oder 1.74 Proc.

2. 1.7502 g Käse verloren 0.8687 g $H_2O$ oder 49.63 Proc. und gaben 0.0307 g oder 1.75 Proc. Asche.

Der geringe Aschegehalt ist dadurch bedingt, dass der Käse nicht gesalzen war.

### Fett- und Caseïnbestimmungen

wurden in der Weise ausgeführt, dass die abgewogene Menge in ein Kölbchen hineingebracht und mit Alkohol und Aether so lange extrahirt wurde, bis einige Tropfen des Aethers, auf dem Uhrglas verdunstet, keinen Rückstand hinterliessen. Alkohol und Aether wurden abdestillirt, das zurückgebliebene Fett Anfangs auf dem Wasserbade, nachher im Exsiccator über $SO_4H_2$ bis zu constantem Gewicht getrocknet.

1. 8.7384 g frischen Käses, auf die Weise völlig extrahirt, gaben 2.3911 g oder 27.36 Proc. Fett. Der entfettete Käse wurde hierauf in 60 ccm 0.5 proc. KHO durch Digeriren auf dem Wasserbade aufgelöst. Ein Theil davon durch ein nicht befeuchtetes Filter von dem geringen ungelösten Rückstande filtrirt, und aus 10 ccm des Filtrates das gelöste Caseïn mittelst stark verdünnter Essigsäure gefällt. Das gefällte Caseïn auf ein getrocknetes, gewogenes Filter gebracht und gut ausgewaschen, wog nach dem Trocknen 0.2017 g. Für die 60 ccm und auf den frischen Käse = 8.7384 g berechnet, ergiebt sich der Caseïngehalt = 13.78 Proc.

2. 10.5001 g frischer Käse auf die gleiche Weise behandelt, gaben 2.88 g oder 27.47 Proc. Fett und 13.54 Proc. Caseïn. Es ist zu bemerken, dass bei der Digestion des entfetteten Käses auf dem Wasserbade mit verdünnter KHO nur ein ganz geringer, vorwiegend aus Schimmelpilzen bestehender Rückstand hinterbleibt. Um die möglicher Weise aus dem frischen Käse durch den Aether aufgenommene Milchsäure nachzuweisen, wurde bei der ersten Fettbestimmung der Aetherextract nach dem Trocknen mit Wasser digerirt und der wässerige Auszug mit Zinkoxydhydrat gekocht. Die vom überschüssigen Zinkoxyd filtrirte Lösung hinterliess nach dem Verdunsten eine unwägbare Menge kleiner Kryställchen, die jedoch nicht die für das Zinklactat charakteristischen Formen besassen. Auch ergab die Elementaranalyse des bei der zweiten Fettbestimmung erhaltenen ätherischen Auszuges Zahlen, die nur wenig von der Zusammensetzung der Butter abweichen. 0.2551 g dieses Aetherextractes gaben 0.6996 g $CO_2$ und 0.2672 g $H_2O$, oder 74.8 Proc. C und 11.60 Proc. H. Nach den Zusammenstellungen Königs[1]) enthält das Butterfett 75.63 Proc. C und 11.87 Proc. H.

Die Stickstoffbestimmungen des frischen Käses lieferten folgende Zahlen:

1. 0.5982 g mit Kupferoxyd verbrannt, gaben 16.8 ccm N-Gas bei 11° Temp. und 707 mm Baromst., oder 3.11 Proc. N. Unter Zugrundelegung des für das

[1]) Chemische Zusammensetzung der Nahrungs- und Genussmittel. Berlin 1879, S. 15.

Caseïn der Schafmilch von Dumas und Cahours erhaltenen Stickstoffgehaltes, 15.8 Proc., würden 3.11 g N = 19.81 g Caseïn entsprechen.

2. 0.4861 g frischen Käses gaben 15.2 ccm N-Gas bei 13.2° Temp. und 705 mm Baromst., oder 3.4 Proc. N-Gas, entsprechend 21.51 g Caseïn.

Aus den oben für das Casein mitgetheilten Zahlen geht hervor, dass bereits in nicht eingekellertem Käse, bloss durch die Art der Bereitung, die kleinere Hälfte des Milchcaseïns in eine lösliche, aus der alkalischen Lösung durch Essigsäure nicht fällbare Modification übergeführt worden ist. Denn während aus dem gefundenen Stickstoffgehalte die Menge der Proteïnsubstanzen des frischen Käses im Mittel auf 20.78 Proc. sich berechnet, ergaben die gut unter einander für das fällbare Caseïn stimmende Zahlen nur 13.7 Proc.

Aus den angeführten Zahlen ergiebt sich für den frischen, nicht eingekellerten Roqueforter Käse folgende Zusammensetzung:

| | I. | II. | Im Mittel |
|---|---|---|---|
| Wasser | 49.69 | 49.63 | 49.66 |
| Caseïn | 13.79 | 13.66 | 13.72 |
| Lösliches Eiweiss | 6.02 | 7.84 | 6.93 |
| Fett | 27.36 | 27.47 | 27.41 |
| Asche | 1.75 | 1.74 | 1.74 |
| | 98.61 | 100.34 | 99.46 |

Von dem gleichen Kellereibesitzer in Roquefort, Herrn Mialane et Cie., erhielt ich auf meinen Wunsch einen Käse, der einen Monat lang in Roquefort in seinen Kellern aufbewahrt wurde. Die Analyse dieses Käses wurde genau so wie die des frischen ausgeführt, so dass ich mich nur auf die Mittheilung der erhaltenen Zahlen zu beschränken brauche.

### Wasser- und Aschebestimmungen.

1. 2.8787 g Käse, bis zum constanten Gewichte getrocknet, verloren 1.0599 g oder 36.81 Proc. Wasser. Der trockene Käse, im Platintiegel bis zum constanten Gewicht geglüht, hinterliess 0.1450 g oder 5.0 Proc. Asche.

2. 2.8222 g des Käses verloren 1.0458 g oder 37.05 Proc. Wasser und hinterliessen nach dem Glühen 0.1358 g oder 4.52 Proc. Asche.

Da der jetzt analysirte Käse gesalzen war, so war es von Interesse, den Gehalt desselben an Kochsalz zu ermitteln. Es wurde deshalb die bei der ersten Bestimmung erhaltene Asche in verdünnter Salpetersäure gelöst und mit $NO_3Ag$ im Ueberschusse versetzt.

Aus 0.1450 g Asche wurden 0.1947 g AgCl oder 0.0793 g ClNa erhalten, was 54.68 Proc. Kochsalz in der Asche entspricht.

### Fett- und Caseïnbestimmungen.

17.1485 g des Käses, mit Alkohol und Aether extrahirt, gaben 5.3561 g oder 31.23 Proc. Fett. Der entfettete Käse wurde in 500 ccm 0.5 proc. KHO-Lösung auf warmem Wasserbade gelöst und von der geringen Menge ungelösten Rückstandes, der fast nur aus den Penicilliumfäden bestand, filtrirt. Aus 200 ccm des Filtrates

wurde das Caseïn durch verdünnte Essigsäure gefällt und wog nach dem Trocknen 0.345 g, was auf die gesammte Flüssigkeit, entsprechend 17.1485 g des Käses, 5.02 Proc. Caseïn ausmacht.

### Stickstoffbestimmungen.

1. 0.5925 g des Käses gaben 21.6 ccm N-Gas bei 720 mm Baromst. und 14° Temp. = 4.06 Proc. N, entsprechend 25.8 Proc. Caseïn.

2. 0.6713 g des gleichen Käses gaben 24.7 ccm N-Gas bei 720 mm Baromst. und 14° Temp., oder 4.09 Proc. N, entsprechend 26.0 Proc. Caseïn.

Für die procentische Zusammensetzung des Käses nach einmonatlichem Liegen im Keller wurden also folgende Zahlen erhalten:

| | I. | | II. | Im Mittel |
|---|---|---|---|---|
| Wasser | 36.81 | | 37.05 | 36.93 |
| Caseïn | 5.02 | Caseïn + lösliches Eiweiss | 26.00 | 5.02 |
| Lösliches Eiweiss | 20.77 | | | 20.77 |
| Fett | 31.23 | | — | 31.23 |
| Asche | 5.03 | | 4.52 | 4.78 |
| | 98.86 | | | 98.73 |

Um zu sehen, ob nach einmonatlicher Reifung eine merkbare Zersetzung des Eiweisses eingetreten ist, habe ich den Gehalt dieses Käses an flüchtigen Fettsäuren, welche bei der Käsegährung wohl nur vom Eiweiss herstammen, bestimmt. Es wurden zu dem Zwecke 227 g des Käses mit viel Wasser zu einem dünnen Brei angerührt, mit 10 ccm englischer $SO_4H_2$ angesäuert und der Destillation unterworfen, und zwar wurde so lange destillirt, bis die übergehende Flüssigkeit nicht mehr sauer reagirte. In dem Destillate (im Ganzen 1230 ccm) wurde der Säuregehalt durch Titrirung mit Barytlösung von bekanntem Gehalte bestimmt. Es wurden so, wenn der Säuregrad auf Buttersäure bezogen wird, im Ganzen 0.418 g oder 0.18 Proc. Buttersäure erhalten.

In den Kellern zu Roquefort verbleiben die Käse, um den Reifungsprocess durchzumachen, mehrere Monate. Die im Mai und Juni eingekellerten Laibe kommen im September bis November zum Verbrauch. Um nun die Zusammensetzung der gereiften Roqueforter Käse kennen zu lernen, habe ich von einem Grosshändler in Paris reife und auch ganz alte Roqueforter Käse bezogen. Mein Absicht war, die verschiedenen Bestandtheile des alten Käses zu isoliren, um so die Producte des Reifungsprocesses kennen zu lernen. Ich habe dabei auch mehrfac Analysen nach gleichem Schema, wie die des frischen Käses, ausgeführt, und wi hier Vergleichs halber eine solche mittheilen.

### Wasser- und Aschebestimmungen.

1. 6.7566 g eines alten Käses bis zum constanten Gewicht getrocknet, verloren 1.5914 g oder 23.54 Proc. Wasser. Ferner 1.5695 g des gleichen Käses, zuerst getrocknet und dann im Platintiegel ausgeglüht, hinterliessen 0.0985 g oder 6.27 Proc. Asche. Um den Kochsalzgehalt zu bestimmen, wurde eine andere Portion des

Käses verascht, die Asche in verdünnter Salpetersäure gelöst und mit Silbernitrat gefällt. Aus 0.1070 g Asche erhielt ich 0.1923 g AgCl = 0.0784 g ClNa oder 73.27 Proc. ClNa.

### Fett- und Caseïnbestimmungen.

23.5895 g des Käses, mit Alkohol und Aether vollständig extrahirt, gaben 9.4683 g oder 40.13 Proc. Fett. Der entfettete Käse wurde in 0.5 Proc. KHO gelöst, filtrirt und der geringe Rückstand auf dem Filter gut ausgewaschen. Aus dem Filtrate durch verdünnte Essigsäure gefälltes Caseïn wog nach dem Trocknen 1.913 g oder 8.53 Proc. Caseïn.

### Stickstoffbestimmung.

0.7901 g des Käses gaben 30.4 ccm N-Gas bei 14.2° Temp. und 714 mm Baromst., oder 4.24 Proc. N.

Die procentische Zusammensetzung dieses Käses nach gleichem Schema wie früher berechnet, würde folgende sein:

| | I. |
|---|---|
| Wasser | 23.54 |
| Caseïn | 8.53 |
| Lösliches Eiweiss | 18.47 |
| Fett | 40.13 |
| Asche | 6.27 |
| | 96.94 |

Selbstverständlich ist eine solche Zusammenstellung für den alten Käse nicht mehr zulässig. Wie in den früheren Analysen, so wurde auch hier unter der Rubrik „lösliche Eiweissstoffe" die aus dem gefundenen Stickstoff, nach Abzug des fällbaren Caseïns, berechnete Eiweissmenge gesetzt. In Wirklichkeit aber ist der Stickstoff des alten Käses nur zum Theil als lösliches Eiweiss oder Pepton enthalten, ein anderer Theil des Stickstoffs ist darin in Form von Tyrosin, fetten Amidosäuren und von Ammonsalzen der flüchtigen Fettsäuren enthalten. Eine genauere Bestimmung jeder von diesen Substanzen ist bei der Schwierigkeit ihrer Trennung vor der Hand nicht möglich. Eine ungefähre Vorstellung über die Natur und Quantität dieser Bestandtheile habe ich auf folgende Weise zu ermitteln gesucht.

1/2 kg des ganz alten Käses, dessen Analyse oben mitgetheilt wurde, habe ich mit viel Wasser zu einem dünnen Brei angerührt, mit 20 ccm englischer $SO_4H_2$ angesäuert, der Destillation unterworfen und in dem Destillate, wie oben angegeben, den Säuregrad bestimmt. Die Hauptmenge des Destillates wurde sodann mit Natron neutralisirt und auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet. Die durch Schwefelsäure aus den Natronsalzen abgeschiedenen Fettsäuren wurden über Chlorcalcium, dem etwas Aetzbaryt zugesetzt worden, getrocknet und aus einem Fractionirkölbchen destillirt. Die Flüssigkeit ging zwischen 120 bis 155° über, ohne einen constanten Siedepunkt zu zeigen. An eine wiederholte Fractionirung war bei der geringen Menge der Fettsäuren nicht zu denken. Jedenfalls bestanden sie vorwiegend aus Buttersäure, und wenn der Säuregrad auf die letztere bezogen wird, so wurden im Ganzen 6.8 g oder 1.36 Proc. Buttersäure von dem Gewichte des Käses erhalten.

Der Retortenrückstand wurde filtrirt, mit viel Wasser verdünnt, die zugesetzte $SO_4H_2$ durch Barythydrat gefällt, filtrirt und von Neuem destillirt. Das ammoniakalische Destillat wurde mit Salzsäure neutralisirt und in 5 ccm desselben das Ammoniak als Platinsalmiak bestimmt. Die auf diese Weise erhaltene $NH_3$-Menge betrug 1.4 Proc. von dem Gewichte des Käses.

Nach der Entfernung der flüchtigen Fettsäuren und des $NH_3$ ergab der Retortenrückstand, auf dem Wasserbade concentrirt, einen syrupösen Rückstand, aus dem beim Erkalten zunächst Tyrosin in schönen Drusen auskrystallisirte. Das Tyrosin wurde abfiltrirt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Im Ganzen wurden 0.837 g oder 0.167 Proc. Tyrosin erhalten. Aus der Mutterlauge des Tyrosins krystallisirte bei weiterer Concentration das Leucin heraus, das jedoch von der syrupösen, peptonartigen Materie, die auch die Hauptmenge bildete, sich nicht gut trennen liess.

Wird Roqueforter Käse mit Wasser zu einem dünnen Brei angerührt, mit Schwefelsäure oder auch mit Essigsäure angesäuert und destillirt, so geht in das Destillat eine flüchtige Materie über, die diesem Käse den specifischen Geruch und Geschmack verleiht. Da ich die Beobachtung machte, dass die grösste Menge dieser flüchtigen Materie aus altem Käse erhalten wird, so versuchte ich durch Destillation eines 2 kg wiegenden Käses, der mir mit der Bemerkung „le plus vieux que possible“ zugeschickt worden, und der ganz brüchig und von Schimmelpilzen gänzlich durchsetzt war, diesen flüchtigen Stoff in grösseren Mengen zu erhalten. Zu dem Zwecke wurde das erhaltene Destillat mit Natron neutralisirt und mit Aether ausgeschüttelt. Der ätherische Auszug hinterliess ein sehr flüchtiges, wenig gelb gefärbtes Oel von scharfem brennendem Geschmack, neutraler Reaction und dem specifisch modrigen Schimmelgeruch, der das ganze Laboratorium erfüllte. Leider krystallisirte das Oel nicht, und es gelang auch nicht, es in irgend eine analysirbare Form zu bringen. Dieser Käse enthielt in 100 Theilen nur 19.94 Proc. Wasser und 35.11 Proc. Fett. Der Rest bestand in überwiegender Menge aus peptonartigen Materien neben Leucin, Tyrosin und Ammoniaksalzen der flüchtigen Fettsäuren.

Wenn wir die nach gleichem Schema ausgeführten Analysen zusammenstellen, so erhalten wir für den Reifungsprocess des Käses folgendes Resultat:

| | Frischer Käse | Käse nach einmonatlichem Liegen im Keller | Ganz alter Käse |
|---|---|---|---|
| Wasser | 49.66 | 36.93 | 23.54 |
| Caseïn | 13.72 | 5.02 | 8.53 |
| Lösliches Eiweiss | 6.93 | 20.77 | 18.47 |
| Fett | 27.41 | 31.23 | 40.13 |
| Asche | 1.74 | 4.78 | 6.27 |
| | 99.46 | 98.73 | 96.94 |

Die auffallendste Veränderung, welche der Käse beim Altwerden erleidet, ist daher der Wasserverlust — die Vertrocknung —. Die Zunahme an Fett ist nur eine scheinbare, denn wenn wir den Procentgehalt auf 100 Thle. trockener Substanz beziehen, so erhalten wir für das Fett und die Proteïnsubstanzen (Caseïn + lösliches Eiweiss) folgenden Gehalt:

| | Fett | Eiweiss |
|---|---|---|
| Frischer Käse in 100 Thln. trockener Substanz | 53.91 Proc. | 40.80 Proc. |
| Nach einmonatlichem Liegen | 49.94 „ | 40.53 „ |
| Alter Käse | 56.14 „ | 37.78 „ |

Der nur um Weniges höhere Fettgehalt im alten Käse kann einfach in der Verschiedenheit der Bereitung — mehr oder weniger abgerahmter Milch — bedingt sein. — Auch durch den Umstand, dass durch Bildung flüchtiger Producte aus dem Eiweiss der Procentgehalt des letzteren sich vermindert, wird der Fettgehalt in Procenten ein wenig erhöht.

Es ist bemerkenswerth und für die Fäulniss charakteristisch, dass in dem alten Käse, in welchem bereits ein Theil des Eiweisses in Leucin, Tyrosin, flüchtige Fettsäuren und Ammoniak umgewandelt worden, die Menge des unveränderten, aus der alkalischen Lösung durch Essigsäure fällbaren Caseïns noch immer eine sehr beträchtliche ist.

Ausser der Vertrocknung ist die zweite wesentliche Veränderung, die der Käse beim Reifen erleidet, „der Eiweisszerfall". Die Zersetzung des Caseïns wird wohl vorwiegend durch die auf der Oberfläche des Käses befindlichen Schimmelvegetationen bewirkt; und in den günstigen Bedingungen für die Schimmelbildung auf der Oberfläche des Käses liegt jedenfalls der Hauptvortheil der Roqueforter Keller. In allen Beschreibungen derselben wird hervorgehoben, dass durch die natürlichen und künstlichen Spalte in den Kellern ein beständiger Luftwechsel vorhanden ist. Der Feuchtigkeitsgrad wird im Durchschnitt von 60 bis 65° angegeben, und die Temperatur in den verschiedenen Kellern, je nach dem Ausgang der Luftzüge, zwischen 5 bis 7°. Es treffen demnach hier die für die Schimmelculturen günstigsten Bedingungen zusammen. Von wie grossem Einflusse gerade der Luftwechsel auf das Leben der an der Luft vegetirenden Pilzformen ist, zeigt ein Versuch von Pasteur[1]), wonach eine Zuckerlösung, mit Hefe versetzt, an der Luft in kürzester Zeit vergährt und, falls für raschen Luftwechsel und rasche Entfernung der gebildeten $CO_2$ gesorgt wird, das Verhältniss der neu gebildeten Hefe zum zersetzten Zucker wie 1 : 8 ist. Das Verhältniss kann sogar auf 1 : 4 gebracht werden. In diesem Falle aber lebt und wirkt die Hefe schon nach Art der Schimmelpilze. Lässt man dagegen bei vollkommenem Luftausschluss den Zucker durch Hefe zersetzen, so ist nach vollendeter Vergährung des Zuckers das Verhältniss der neu gebildeten Hefe zu zersetztem Zucker wie 1 : 89.

Die Producte, welche durch die Käsegährung aus dem Eiweiss gebildet werden, sind ziemlich die gleichen, wie die aus den ersten Stadien der Fäulniss erzeugten. Charakteristisch für die Schimmelgährung ist die ölige Materie von eigenthümlichem Geruch, die aus dem Destillate durch Aether aufgenommen wird.

Die von mir erhaltenen Resultate stimmen im Allgemeinen mit den Angaben von Brassier, Alex. Müller[2]) und Anderen überein. Die auffallendsten Veränderungen, welche der Käse beim Reifen erleidet, betreffen den Wasserverlust und Zerfall des Eiweisses in die oben bezeichneten Producte. Es lag nicht im Plan

[1]) Etudes sur la Bière, p. 244.

[2]) Jahresber. f. Agricultur-Chemie, 1870—1872, S. 246.

dieser Arbeit, die Verschiedenheiten der Käsegährung, wie sie durch die Art der Zubereitung, der Nachbehandlung, die verschiedenen Schimmelvegetationen u. s. w. bedingt werden, zu untersuchen.

Es sei mir schliesslich gestattet, mit nur wenigen Worten auf die in der Einleitung berührte Frage, „die Fettbildung im lebendigen Thierkörper" betreffend, zurückzukommen. Wenn auch alle oben angeführten Beweise für die Bildung von Fett aus Eiweiss sich als nicht stichhaltig erwiesen haben, so ist damit noch lange nicht der Gegenbeweis geliefert, dass in der lebendigen thierischen oder pflanzlichen Zelle Eiweiss nicht zur Fettbildung verwendet werde.

Je mehr wir uns der Erkenntniss der chemischen Processe in den lebendigen Zellen oder einzelligen Organismen nähern, um so mehr sehen wir die Schwierigkeiten ein, die sich einer einfachen Erklärung derselben entgegenstellen. Die einzelligen Organismen, wie Bacterien oder Hefe, bilden aus den einfachsten chemischen Verbindungen Eiweiss, Fett, Kohlehydrate, assimiliren und modificiren anorganische Salze u. s. w. Nach welchem chemischen Modus? vermöge welcher Kräfte? das sind unbeantwortete Fragen.

Wenn wir demnach einer lebendigen Zelle die Fähigkeit zusprechen müssen, aus jeder beliebigen chemischen Verbindung Fett zu bilden, so ist auch kein Grund vorhanden, zu behaupten, dass eine krankhafte Zelle nicht die Fähigkeit haben sollte, Eiweiss in Fett umzuwandeln. Im Grunde genommen ist daher der Streit, ob nur Eiweissstoffe oder ausschliesslich Zuckerstoffe als Fettbildner des thierischen Organismus aufzufassen sind, ein gegenstandsloser. Die lebendige Zelle kann aus dem einen oder dem anderen Material Fett bilden, und es ist nur die Frage zu lösen, welches von beiden die ergiebigere Fettquelle ist. Dass die Antwort auf diese Frage in erster Linie durch die Natur und individuelle Verschiedenheit der betreffenden lebendigen Zelle, resp. des Zellcomplexes, aus welchem ein Organismus besteht, bedingt wird, liegt auf der Hand.

Laboratorium des Prof. Nencki in Bern.

---

# Ueber das Salireton

von

**P. Giacosa.**

Journ. prakt. Chem. 21, 2[illegible]

Die in Folgendem zu beschreibende Substanz wurde erhalten gelegentlich einiger Versuche, die ich in der Absicht, synthetisch Glucoside zu erhalten, angestellt habe. Ich habe beispielsweise Chinon, Hydrochinon, Saligenin, Pyrogallol mit reinem Traubenzucker in offenen und zugeschmolzenen Röhren bei verschiedenen Temperaturen erhitzt, ohne dass es mir gelungen wäre, synthetisch ein Glucosid darzustellen.

Als ich aber Saligenin und Mannit auf 100° erhitzte, wurde eine neue krystallinische Substanz erhalten, die sich allerdings nicht als eine Verbindung des Saligenins

mit Mannit, sondern als ein neues Condensationsproduct des Saligenins selber herausstellte. Ich will diese Substanz mit dem Namen Salireton bezeichnen.

Fortgesetzte Untersuchungen haben mich sodann belehrt, dass der neue Körper in noch grösserer Quantität gewonnen wird, wenn Saligenin, statt mit Mannit, mit dem gleichen Aequivalentgewichte Glycerin auf 100° erwärmt wird; und als ich, in ganz anderer Absicht, Saligenin mit Methylal am Rückflusskühler auf dem Wasserbade erwärmte, wurde ebenfalls die gleiche Substanz, wie aus Mannit oder Glycerin, erhalten.

Zur Darstellung des neuen Körpers habe ich am zweckmässigsten gefunden, gleiche Gewichtstheile Saligenin und wasserfreies Glycerin in zugeschmolzenen Röhren[1]) 8 Stunden lang in kochendem Wasser zu erhitzen, das Saligenin schmilzt und die ganze Masse verwandelt sich in eine schwach gelbliche homogene Flüssigkeit. Beim Oeffnen der Röhren nach dem Erkalten ist kein Druck bemerkbar. Durch Zusatz von Wasser scheidet sich eine gelblich harzige Masse aus, welche sich beim Kochen zum Theil in Wasser löst, und beim Erkalten des filtrirten wässerigen Auszuges krystallisirt das Salireton in rhombischen Blättern und Nadeln aus. Durch wiederholtes Auskochen des harzigen Rückstandes mit wenig Wasser kann noch etwas mehr von der Substanz gewonnen werden. Die Ausbeute ist jedoch stets nur gering; sie beträgt 2.5 Proc. von dem Gewicht des angewandten Saligenins. Die Hauptmenge des letzteren bleibt unverändert, und kann aus der nach dem Auskrystallisiren des Saliretons erhaltenen Mutterlauge durch Extraction mit Aether wieder gewonnen werden.

Um das Salireton weiter zu reinigen, habe ich es erst aus heissem Wasser, worin es ziemlich löslich ist, umkrystallisirt; noch leichter gelingt es, die Substanz rein zu erhalten, durch Auflösen der Krystalle in stark verdünnter kalter Kalilauge und Fällen der Lösung mit Salzsäure.

Die auf die eine oder die andere Weise gereinigte und sei es durch Erhitzen mit Mannit, Glycerin oder Methylal erhaltene Substanz hat stets den gleichen Schmelzpunkt 121.5°.

Die Elementaranalysen des über Schwefelsäure getrockneten Saliretons ergaben folgende Zahlen:

1. Salireton aus Mannit. 0.1680 g Substanz gaben 0.1002 g $H_2O$ und 0.4534 g $CO_2$ = 73.60 Proc. C und 5.36 Proc. H.

2. Salireton aus Glycerin. 0.2619 g Substanz gaben 0.7074 g $CO_2$ und 0.1578 g $H_2O$ = 73.62 Proc. C und 5.42 Proc. H. 0.2544 g Substanz gaben 0.6862 g $CO_2$ und 0.1558 g $H_2O$ = 73.56 Proc. C und 5.51 Proc. H. 0.2235 g Substanz gaben 0.6030 g $CO_2$ und 0.1347 g $H_2O$ = 73.57 Proc. C und 5.42 Proc. H.

3. Salireton aus Methylal. 0.2107 g Substanz gaben 0.5699 g $CO_2$ und 0.1255 g $H_2O$ = 73.76 Proc. C und 5.36 Proc. H. 0.1902 g Substanz gaben 0.5103 g $CO_2$ und 0.1101 g $H_2O$ = 73.6 Proc. C und 5.20 Proc. H.

Die Zusammenstellung sämmtlicher Analysen ergiebt folgendes Resultat:

---

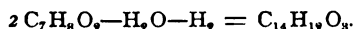
[1]) Beim Erhitzen in offenen Gefässen werden entweder nur Spuren oder gar kein Salireton erhalten.

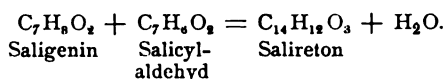
| Procent | Salireton aus Mannit | Salireton aus Glycerin | | | Salireton aus Methylal | | Im Mittel |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C . . . . | 73.60 | 73.62 | 73.56 | 73.57 | 73.76 | 73.6 | 73.61 |
| H . . . . | 5.36 | 5.42 | 5.51 | 5.42 | 5.36 | 5.20 | 5.38 |

Die einfachste Formel, welche sich aus diesen gut unter einander stimmenden Zahlen berechnen lässt, ist $C_{14}H_{12}O_3$.

| | | | Gefunden: |
|---|---|---|---|
| $C_{14}$ = | 168 | 73.68 | 73.61 |
| $H_{12}$ = | 12 | 5.26 | 5.38 |
| $O_3$ = | 48 | 21.06 | — |
| | 228 | 100.00 | |

Die Bildung des Saliretons könnte man durch folgende Gleichung veranschaulichen:

$$2\,C_7H_8O_2—H_2O—H_2 = C_{14}H_{12}O_3.$$

Die auffallende Erscheinung, dass bei der Bildung des Salíretons ausser Wasser noch Wasserstoff austreten sollte, liess mich vermuthen, dass vielleicht in erster Instanz ein Molekül Saligenin zu Salicylaldehyd oxydirt werde, das sich erst dann mit einem zweiten Saligeninmolekül zum Salireton unter Austritt von Wasser vereinigt:

$$\underset{\text{Saligenin}}{C_7H_8O_2} + \underset{\text{Salicylaldehyd}}{C_7H_6O_2} = \underset{\text{Salireton}}{C_{14}H_{12}O_3} + H_2O.$$

Obgleich nun beim Erhitzen von Saligenin mit Glycerin der Geruch nach Salicylaldehyd nicht wahrnehmbar wurde, so habe ich doch äquivalente Mengen Salicylaldehyd und Saligenin genau so wie Saligenin mit Glycerin in kochendem Wasser im zugeschmolzenen Rohre erhitzt. Als nach Verlauf von mehreren Stunden noch immer der Geruch nach Salicylaldehyd wahrnehmbar blieb, wurde das Erhitzen unterbrochen, die Flüssigkeit mit Wasser versetzt und destillirt; mit den Wasserdämpfen ging fast sämmtlicher zugesetzter Salicylaldehyd über, der in der Retorte zurückgebliebene harzige Rückstand wurde mit wenig Wasser ausgekocht und filtrirt. Im Filtrate krystallisirte das Salireton aus, das nach einmaligem Umkrystallisiren rein war und bei 121.5° schmolz. Die Ausbeute an Salireton war jedoch viel geringer, als wie durch Erhitzen des Saligenins mit Glycerin oder Methylal. Jedenfalls spielt das Salicylaldehyd, ähnlich wie das Glycerin, nur die Rolle einer Suspensionsflüssigkeit.

Die wässerige Lösung des Salíretons giebt mit Eisenchlorid keine blaue Färbung mehr (Unterschied von Saligenin); dagegen die trockenen Krystalle, mit concentrirter Schwefelsäure übergossen, färben sich, ähnlich wie Salicin und dessen Derivate, schön roth. In fixen Alkalien ist das Salireton leicht löslich und wird daraus durch Säurezusatz in Krystallnadeln gefällt; auch in Ammoniak löst sich das Salireton, wenn auch schwierig, auf. Bei langsamem Verdunsten der ammoniakalischen Lösung wurden durchsichtige, grün gefärbte, makroskopische Prismen erhalten, die ich

Anfangs für ein neues Derivat des Saliretons hielt. Die grünen Krystalle, im Exsiccator getrocknet, verwitterten jedoch rasch und zerfielen zu einem weissen Pulver, das alle Eigenschaften des unveränderten Saliretons zeigte. Die Krystalle waren stickstofffrei, ihr Schmelzpunkt lag bei 121.5°; in heissem Wasser gelöst, krystallisirte die Materie durchaus in gleichen Formen wie das unveränderte Salireton; es unterliegt keinem Zweifel, dass die beim Verdunsten der ammoniakalischen Lösung erhaltenen Krystalle nur Salireton mit Krystallwasser waren.

Wie schon erwähnt, schmilzt das Salireton bei 121.5°. Einmal geschmolzen, krystallisirt es nicht mehr. Ueber 140° erhitzt, entwickelt es plötzlich Gas, ein deutlicher Geruch nach Salicylaldehyd wird bemerkbar, und es bleibt ein harziger Körper zurück. Auch durch längeres Kochen mit Wasser, rascher bei Gegenwart von Mineralsäuren, geht das Salireton in Harz über. Aus gleichem Grunde gelang es mir nie, durch Einwirkung von Chlor oder Brom Substitutionsproducte zu erhalten. Salireton, in Wasser gelöst, giebt mit Chlor- oder Bromdämpfen nur harzige Producte. Das gleiche Resultat wurde erhalten, als Salireton in Chloroform gelöst und mit Chlor resp. Brom behandelt wurde. Um die Natur des beim Erhitzen des Saliretons entstehenden Harzes kennen zu lernen, habe ich Salireton bei 135 bis 140° bis zu constantem Gewicht getrocknet, den harzigen Rückstand in Aether gelöst, filtrirt und nach Verdunsten des Aethers den Rückstand in verdünnter Kalilauge gelöst und mit Salzsäure gefällt. Der harzige Niederschlag wurde gut ausgewaschen und Anfangs im Exsiccator über Schwefelsäure, hierauf im Luftbade bei 140° bis zum constanten Gewicht getrocknet und analysirt.

0.1101 g Substanz gaben 0.3185 g $CO_2$ und 0.0648 g $H_2O$. C = 78.89 Proc. H = 5.21 Proc.

0.1775 g Substanz gaben 0.5186 g $CO_2$ und 0.0977 g $H_2O$. C = 79.67 Proc. H = 4.95 Proc.

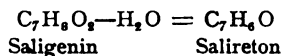
Die erhaltenen Zahlen, wenn auch nicht mit ganz guter Uebereinstimmung, stehen am nächsten der von Piria[1]) für das Saliretin aufgestellten Formel:

| | Versuch | | Die Formel des Saliretins verlangt: | | |
|---|---|---|---|---|---|
| C | 78.89 Proc. | 79.67 | $C_7$ = | 84 = | 79.20 Proc. |
| H | 5.21 „ | 4.95 | $H_6$ = | 6 = | 5.66 „ |
| | | | O = | 16 = | 15.14 „ |
| | | | | 106 | 100.00 Proc. |

Weniger mit der Formel des Saliretins übereinstimmende Zahlen wurden erhalten, als reines trockenes Salireton in gewogenen Platinschiffchen im langsamen Kohlensäurestrome auf 140° erhitzt, bis zum constanten Gewichte bei dieser Temperatur getrocknet und sodann der aus gelblichem, durchsichtigem Harz bestehende Rückstand analysirt wurde.

Beim Uebergang in den harzigen Körper verlor das Salireton 16.3 bis 17.8, im Mittel aus drei Bestimmungen 17.03 Proc. Auch reines Saligenin habe ich genau wie das Salireton bei 140° bis zu constantem Gewichte getrocknet. Der Gewichtsverlust betrug hier 17.8 Proc. Die Gleichung:

[1]) Ann. chim. phys. **69**, 318 und [3] **14**, 268.

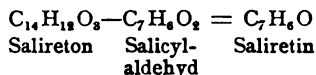
$$\underset{\text{Saligenin}}{C_7H_8O_2} - H_2O = \underset{\text{Salireton}}{C_7H_6O}$$

verlangt einen Gewichtsverlust von 14.52 Proc.

Die für den nicht weiter gereinigten harzigen Rückstand aus Salireton und Saligenin erhaltenen Zahlen sind folgende:

1. Aus Salireton. 0.2388 g Substanz gaben 0.6099 g $CO_2$ und 0.1191 g $H_2O$. C = 80.6 Proc. H = 5.19 Proc.

2. Aus Saligenin. 0.3640 g Substanz gaben 1.0398 g $CO_2$ und 0.1895 g $H_2O$. C = 77.9 Proc. H = 5.75 Proc.

Zieht man den Umstand in Betracht, dass sowohl beim Uebergang des Saliretons wie des Saligenins in das Harz Salicylaldehyd entweicht (eine Erscheinung, die schon Piria[1]) beim Uebergang des Saligenins in Salireton beobachtete, und die ich stets beim Erwärmen von Saligenin und Salireton auf 130 bis 140° eintreten sah), so liesse sich eine sehr einfache Formel für die Bildung des Saliretins aufstellen:

$$\underset{\text{Salireton}}{C_{14}H_{12}O_3} - \underset{\text{Salicylaldehyd}}{C_7H_6O_2} = \underset{\text{Saliretin}}{C_7H_6O}$$

Allerdings verlangt diese Gleichung einen weit grösseren Gewichtsverlust, als der gefundene beträgt. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass das frei werdende Salicylaldehyd sich nur zum geringsten Theil verflüchtigt, und die Hauptmenge in wasserärmere Condensationsproducte übergeht. Diese ebenfalls harzigen Materien dürften die Ursache sein, weshalb bis jetzt das Saliretin noch nie in analytisch reinem Zustande erhalten wurde.

Ich kann daher der Ansicht Kraut's[2]), welcher die Annahme, Saliretin sei Saligenin minus ein Molekül Wasser, als „sehr unwahrscheinlich" bezeichnet, nicht unbedingt beistimmen. Dass ein Körper von der empirischen Zusammensetzung $C_7H_6O$ wohl existire, geht aus meinen oben mitgetheilten Analysen (S. 553) hervor. Natürlich betrachte ich es als eine offene Frage, ob die Zusammensetzung des Saliretins durch die einfache Formel $C_7H_6O$ oder, was wahrscheinlicher, durch ein Multiplum davon ausgedrückt werden soll. Andererseits zeigen die erhaltenen Resultate, dass die Entstehung des Saliretins nicht einfach durch Wasseraustritt geschieht, sondern dass der Bildung dieses Körpers aus Saligenin die Entstehung anderer intermediärer Producte, wie des Saliretons und Salicylaldehyds, vorausgeht.

Nencki's Laboratorium in Bern.

---

[1]) A. a. O.

[2]) Ann. Chem. Pharm. **156**, 123.

# Ueber die Ursache der sauren Reaction der thierischen Gewebe nach dem Tode

Von

**M. Ekunina.**

In.-Diss. Bern. — Journ. prakt. Chem. **21**, 478.

Es ist eine bekannte und wiederholt constatirte Thatsache, dass die sämmtlichen Gewebe des Thierkörpers intra vitam mehr oder weniger alkalische Reaction zeigen, und dass kurze Zeit nach dem Tode dieselbe in saure Reaction umschlägt. Da aus verschiedenen Geweben des todten Organismus in grösseren oder geringeren Quantitäten Milchsäure erhalten wurde, so ist die Ansicht vielfach ausgesprochen und fast allgemein angenommen worden, dass die postmortale saure Reaction der Gewebe eben in der Bildung der Milchsäure ihren Grund hat.

Die zahlreichen und nach verschiedenen Richtungen hin in den letzten Jahren über die Fäulniss angestellten Untersuchungen haben zu dem Ergebniss geführt, dass die Fäulniss bewirkenden Mikroorganismen nicht allein im Darmrohr des Menschen und der höher stehenden Thiere, sondern auch deren Keime in sämmtlichen Geweben des Thierkörpers, namentlich aber in dem Pankreas und der Leber in ungeheurer Menge sich vorfinden. Es wurde ferner durch diese Untersuchungen festgestellt, dass diese Organe nach dem Tode des Thieres, bei der Bruttemperatur sich selbst überlassen, sofort in Fäulniss übergehen, so dass in wenigen Stunden (3 bis 5) die ersten charakteristischen Producte derselben, d. h. die flüchtigen Fettsäuren und die Reductionsgase aus solchen Geweben erhalten wurden. Die flüchtigen Fettsäuren, von der Capronsäure bis zur Essigsäure hinab, sind charakteristische Spaltungsproducte des Eiweisses durch die Fäulniss, und ein ebenso charakteristisches Zersetzungsproduct der verschiedenen Kohlehydrate durch die Spaltpilze ist die Milchsäure. Als ein Zersetzungsproduct der Proteïnstoffe durch die Spaltpilze wurde aber bis jetzt nie Milchsäure erhalten, während umgekehrt einige von den flüchtigen Fettsäuren, namentlich Buttersäure, durch die weitere Gährung der Milchsäure entstehen.

Auf Grund der bisherigen Untersuchungen kann man mit Sicherheit annehmen, dass die gleich nach dem Tode eines Thieres eintretende Säurebildung die Folge des nunmehr beginnenden Lebens der Spaltpilze in den Geweben ist. Da nun die sämmtlichen Säfte der thierischen Gewebe nicht allein gelöstes Eiweiss, sondern auch Kohlehydrate (Glycogen, Inosit, Traubenzucker) enthalten, so müsste man annehmen, dass die auch nach dem Tode aus den Geweben isolirte Milchsäure durch den Lebensprocess der Bacterien aus den in den Geweben enthaltenen Kohlehydraten gebildet werde. Sollte es sich aber herausstellen, dass die zuerst nach dem Tode auftretende Säure nicht Milch-, sondern eine oder mehrere flüchtige Fettsäuren wären, so könnte man mit ebenso grosser Wahrscheinlichkeit annehmen, dass die letzteren nicht von der Zersetzung der Kohlehydrate, sondern des Eiweisses durch

die Spaltpilze herstammen. Um nun zu erfahren, ob Milchsäure oder flüchtige Fettsäuren zuerst nach dem Tode auftreten, wurden verschiedene Organe, als wie Leber, Muskel, Lunge und Pankreas sowohl in möglichst frischem Zustande, als wie auch nach kürzer oder länger dauernder Fäulniss auf ihren Gehalt an Milch- und flüchtigen Fettäuren untersucht. Später beschränkte ich mich auf das an Kohlehydraten reichste Gewebe, nämlich die Leber, da nur aus diesem Organe die nicht flüchtigen Säuren in zu Analysen hinreichender Menge erhalten werden konnten. Die Untersuchung geschah auf folgende Weise. $1^1/_2$ kg frische, noch warme, schwach alkalisch reagirende Ochsenleber wurde klein zerhackt, mit 4 Liter destillirten Wassers übergossen, durch ein Tuch filtrirt, das Filtrat mit 100 g concentrirter $H_2SO_4$ versetzt und destillirt. Der Retortenrückstand wurde mit Aether geschüttelt, die ätherische Lösung von der wässerigen getrennt und der Aether abdestillirt. Der vom Aether hinterlassene Rückstand wurde mit Zinkoxyd gekocht, filtrirt und eingedampft. Aus der minimalen Menge des syrupösen Rückstandes schieden sich beim Stehen in der Kälte einige wenige Krystalle aus, die unter dem Mikroskop aber keine Aehnlichkeit mit dem Zinklactat hatten. Wegen der geringen Menge konnte ich sie nicht weiter untersuchen. Aus dem Destillat erhielt ich eine kleine, aber nachweisbare Quantität flüchtiger Fettsäuren.

Es wurden nun 2 kg fein zerhackter Leber mit 4 Liter destillirtem Wasser versetzt und 13 Stunden bei 40° stehen gelassen. Nach dieser Zeit schäumte die ganze Masse, reagirte stark sauer und verbreitete einen starken Geruch nach flüchtigen Fettsäuren, welche auch nach gleichem Verfahren wie im ersten Versuche aus dem Destillat erhalten wurden. Da die flüchtigen Fettsäuren nicht ganz in Wasser löslich waren, so kann man annehmen, dass sie ausser Essig- und Buttersäure auch aus Valerian- und Capronsäure bestanden. Die erhaltene Menge war jedoch zu gering, um sie durch fractionirte Destillation zu trennen. Milchsäure wurde auch in diesem Falle nicht gefunden.

1 kg frische Ochsenleber wurde nunmehr 20 Stunden bei 40° digerirt und genau wie in den vorigen Versuchen verarbeitet. Die Destillation wurde so lange fortgesetzt, bis das Destillat nicht mehr sauer reagirte.

Der Retortenrückstand wurde, wie früher, mit Aether geschüttelt, die ätherische Lösung durch den Scheidetrichter abgeschieden und der Aether abdestillirt. Der Aether hinterliess eine syrupdicke braune Flüssigkeit, welche mit Zinkoxyd gekocht und filtrirt wurde. Nach Eindampfen des Filtrates bis auf ein kleines Volum schied sich ein weisses krystallinisches Salz aus. Die Krystalle wurden in heissem Alkohol gelöst, die Lösung filtrirt, nach dem Erkalten mittelst absoluten Alkohols gefällt und auf ein Filter gebracht. Das Salz wurde aus Wasser umkrystallisirt und auf Fliesspapier getrocknet. Die gewonnene Substanz wog 0.8197 g und bestand unter dem Mikroskop aus Nadeln und Säulen. Die Krystallwasser- und Zinkbestimmung ergab folgende Zahlen:

0.8197 g Substanz bis zu constantem Gewichte im Luftbade bei 115° getrocknet, verloren 0.1066 g Krystallwasser oder 13.01 Proc. 0.3386 g der trockenen Substanz gaben 0.0916 g Zink oder 27.05 Proc. 0.2488 g Substanz gaben 0.0661 g Zink oder 26.56 Proc.

Aus diesen Zahlen und der leichten Löslichkeit des Salzes in Alkohol und Wasser ergiebt es sich, dass die Säure Fleischmilchsäure war, deren Zinksalz

12.70 Proc. Krystallwasser,
26.75 „ Zink

verlangt.

Das Destillat wurde mit Natronlauge neutralisirt und eingedampft; als Rückstand blieb eine gelbliche, krystallinische Masse. Dieser Rückstand wurde in heissem Alkohol gelöst, filtrirt und das Filtrat eingedampft. Um die Salzmasse chlorfrei zu bekommen, wurde sie aus absolutem Alkohol umkrystallisirt, sodann wieder im Wasser gelöst und mit $H_2SO_4$ destillirt. Das Destillat mit $NH_3$ neutralisirt und mit $AgNO_3$ gefällt. Die so abgeschiedenen Silbersalze der Fettsäuren ergaben bei der Silberbestimmung in 0.3316 g der im Exsiccator über $H_2SO_4$ getrockneten Substanz 0.1863 g Ag oder 56.18 Proc., in 0.2736 g Substanz 0.1550 g Ag oder 56.24 Proc.: also Zahlen, welche auf ein Gemenge von Buttersäure und Essigsäure hindeuten. Das erstere Salz verlangt 55.38 Proc. Ag.

Ueberlässt man die Ochsenleber mit viel Wasser bei 40° noch länger der Fäulniss, so erhält sich die saure Reaction im Mittel aus mehreren Versuchen etwa 48 Stunden lang; dann wird sie alkalisch, die Fäulniss wird intensiver, indem sie jetzt auf Kosten des Eiweisses geschieht, und die Producte der späteren Eiweissfäulniss: Indol, Skatol, Phenol, Buttersäure u. s. w., auftreten. In den ersten 48 Stunden der Fäulniss, wo die Flüssigkeit noch sauer reagirt, sieht man namentlich bei glycogenreichen Leberinfusen, dass die Flüssigkeit milchig, opalescirend ist und alkalische Kupferoxydlösung zu Kupferoxydul reducirt. Offenbar geht das Leberglycogen zuerst in Traubenzucker und erst dann in Milchsäure über.

Um zu sehen, ob die Fleischmilchsäure constant aus Leberinfusen nach 24 Stunden erhalten werde, habe ich den letzten Versuch noch mehrfach sowohl mit Ochsen-, wie mit an Glycogen reichen Kaninchenlebern wiederholt. Das Resultat war jedoch ein negatives, denn es wurde entweder gar keine Milchsäure erhalten, oder in für Analysen unzureichenden Mengen, so dass nicht entschieden werden konnte, ob die erhaltene Säure Fleisch- oder Gährungsmilchsäure war.

In der Vermuthung, dass vielleicht durch längere Fäulniss die Ausbeute grösser wird, habe ich 1 kg Leber mit 4 Liter Wasser 40 Stunden lang bei Bruttemperatur stehen lassen. Als die faulige Flüssigkeit auf gleiche Weise, wie in den oben beschriebenen Versuchen, verarbeitet wurde, erhielt ich aus dem ätherischen Auszuge statt der Milchsäure Bernsteinsäure. Der ätherische Rückstand bestand nämlich aus rhombischen Tafeln, welche durch Umkrystallisiren aus wenig heissem Wasser leicht rein erhalten wurden. Die Substanz war stickstofffrei, schmeckte und reagirte sauer; ihr Schmelzpunkt lag bei 180°. Auf Platinblech erhitzt, verbrannte sie ohne Rückstand unter Entwickelung zum Husten reizender Dämpfe. Auch durch die charakteristische Reaction mit Eisensalzen wurde die Säure identisch mit Bernsteinsäure erkannt. Im Ganzen wurden 0.5 g der Säure erhalten. Die zwei Mal aus heissem Wasser umkrystallisirte, jedoch noch gelblich gefärbte und im Exsiccator über $H_2SO_4$ getrocknete Säure lieferte bei der Elementaranalyse folgende Zahlen:

0.2113 g Substanz gaben 0.3185 g $CO_2$ und 0.090 g $H_2O$ oder in Procenten:

| Gefunden: | Berechnet: |
|---|---|
| 41.10 Proc. C | 40.68 Proc. C |
| 4.73 „ H | 5.08 „ H |

Die Fäulniss der Leber an der Luft vollzieht sich demnach so, dass sofort nach dem Tode durch die in ihr enthaltenen Keime der Spaltpilze zunächst das gelöste Eiweiss unter Bildung von flüchtigen Fettsäuren, welche auch die beginnende saure Reaction bewirken, in Ammoniak, Wasserstoff und Schwefelwasserstoff, Amidosäuren und Peptone zersetzt wird. Zu gleicher Zeit wird das Glycogen in Traubenzucker und der letztere in Milchsäure verwandelt. Ist der Gehalt der Leber an Glycogen gross, so kann die starke Milchsäurebildung einen solchen Säuregrad erreichen, dass dadurch die Fäulniss verlangsamt wird; sie wird erst dann wieder intensiver, wenn das aus dem Eiweiss herstammende Ammoniak die Milchsäure neutralisirt. Erst jetzt wird die Reaction bleibend alkalisch. Ob die in späteren Stunden der Leberfäulniss auftretende Bernsteinsäure direct aus dem Glycogen oder, was wahrscheinlicher, erst aus der Milchsäure entsteht, bleibt noch unentschieden.

Da namentlich die Leber reich an Glycogen ist, so war es sehr wahrscheinlich, dass die Bildung der Milchsäure in der Leber und anderen Geweben nach dem Tode auf Kosten dieser Substanz geschehe. Wie Musculus und v. Mering[1]) zeigten, wird das Glycogen durch die löslichen Fermente, als: Diastase, Speichel, Pankreas- und Leberferment, in Achroodextrin und Maltose gespalten. Welche Producte aus dem Glycogen durch die geformten Fermente, d. h. Spaltpilze, gebildet werden, darüber liegen bis jetzt, abgesehen von einer nicht weiter vervollständigten Erwähnung Hoppe-Seyler's: „bei der Fäulniss scheint Glycogen in Milchsäure überzugehen“, keine sicheren Beobachtungen vor. Ich habe deshalb eine Reihe von Versuchen mit Glycogen angestellt und gefunden, dass alle in den ersten Stadien der Leberfäulniss von mir erhaltenen nichtflüssigen Säuren, nämlich die beiden Milchsäuren, sowie Bernsteinsäure, durch Spaltpilzgährung sowohl des Glycogens, sowie des Traubenzuckers erhalten werden, wie dies aus folgenden Versuchen hervorgeht.

5 g chemisch reinen Glycogens wurden in 100 g Wasser gelöst, die Lösung mit 2 ccm frischen Pankreassaftes versetzt und bei 40° in einem Kolben im Wasserbad stehen gelassen. Bald darauf wurde die vorher neutral reagirende Flüssigkeit sauer und reducirte Kupferoxyd. Sie wurde von Zeit zu Zeit mit Soda neutralisirt. Nach Verlauf von 8 Tagen, wo die neutralisirte Flüssigkeit nicht mehr saure Reaction annahm, wurde sie zum Sieden erhitzt, filtrirt, das Filtrat auf ein kleines Volum verdunstet, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Aether extrahirt. Der Aetherauszug hinterliess nach dem Abdestilliren des Aethers einen braunen, syrupdicken Rückstand, welcher mit Zinkoxydhydrat gekocht, darauf filtrirt und eingedampft wurde. Es hinterblieb ein aus weissen Krystallnadeln und Säulen bestehendes Salz, welches aus Wasser umkrystallisirt und auf Fliesspapier getrocknet wurde.

Die Zinkbestimmung ergab, dass das Salz milchsaures Zink war, nämlich in 0.3552 g der getrockneten Substanz wurden gefunden: 0.0969 g Zink oder 27.28 Proc.

[1]) Hoppe-Seyler, Physiol. u. pathol. chem. Analyse. 4. Aufl. S. 131.

in 0.2498 g Substanz 0.0677 g Zink oder 27.14 Proc. Der Krystallwassergehalt dagegen stimmte weder mit Gährungsmilchsäure, noch mit Fleischmilchsäure; 0.4204 g bei 115° getrockneter Substanz lieferten 0.0652 g Krystallwasser oder 15.50 Proc. 0.2962 g Substanz gaben 0.0464 g Krystallwasser oder 15.66 Proc.

Man kann daher annehmen, dass ein Gemenge und zwar annähernd zu gleichen Theilen der beiden Salze, d. h. des fleisch- und des gährungsmilchsauren Zinks, vorlag.

Um beide Säuren in hinreichender Menge zu ihrer Trennung zu erhalten, habe ich den Versuch mit 10 g Glycogen, welches in 400 ccm Wasser gelöst und mit 5 ccm frischem Lebersafte versetzt war, wiederholt, und in der Vermuthung, dass vielleicht bei Luftausschluss aus dem Glycogen Fleisch- und nicht Gährungsmilchsäure entsteht, wurde die Glycogenlösung in einem Apparate, ähnlich dem, welchen Pasteur[1]) für seine Alkoholgährungsversuche construirte, bei 40° digerirt. Nach zwei Tagen trat Gährung ein; die Flüssigkeit, welcher etwas Lackmustinctur zugesetzt worden, zeigte saure Reaction. Durch den am Apparate befindlichen Scheidetrichter wurde ihr deshalb von Zeit zu Zeit Sodalösung zugesetzt. Während der ganzen Gährung bestand das entwickelte Gas nur aus Kohlensäure. Nach Verlauf von 13 Tagen, als die Flüssigkeit nicht mehr saure Reaction annahm, wurde sie erhitzt, filtrirt, mit $H_2SO_4$ angesäuert und fast bis zur Trockne eingedampft, sodann mit Aether ausgeschüttelt. Der ätherische Auszug hinterliess nach dem Abdestilliren des Aethers eine syrupöse Flüssigkeit, welche mit Zinkoxydhydrat gekocht wurde. Die filtrirte und auf ein kleines Volumen eingedampfte Flüssigkeit hinterliess ein weisses, krystallinisches Salz, welches zwischen Fliesspapier abgepresst, aus heissem Wasser umkrystallisirt und wieder an der Luft getrocknet wurde. Die Krystallwasser- und Zinkbestimmung ergaben, dass das Salz aus gährungsmilchsaurem Zink bestand.

0.4059 g bei 115° getrocknete Substanz gaben 0.0749 g Krystallwasser, und 0.3310 g Substanz gaben 0.0873 g Zink, oder in Procenten:

| Gefunden: | Berechnet: |
|---|---|
| 18.45 Proc. Krystallwasser | 18.18 Proc. Krystallwasser |
| 26.37 „ Zink | 26.75 „ Zink. |

In einem dritten Versuche wurde deshalb eine noch grössere Menge des Glycogens — nämlich 15 g — bei Luftzutritt aufgestellt. Es wurde jedoch hier keine Milch-, sondern nur in geringen Mengen Bernsteinsäure erhalten. Die Krystalle schmelzen bei 182°, auf Platinblech verbrannt, verbreiteten sie zu Husten reizende Dämpfe, waren stickstofffrei und ihre Lösung gab mit Eisenchlorid den charakteristischen braunrothen Niederschlag.

Aus allem Mitgetheilten geht hervor, dass die bei der Leberfäulniss aufgefundenen beiden Milchsäuren und Bernsteinsäure von dem Leberglycogen herstammen. Warum ein Mal die beiden Milchsäuren, das andere Mal vorwiegend Gährungsmilchsäure, resp. nur Bernsteinsäure erhalten wurden, dafür geben meine Versuche keine Erklärung. Gerade des letzten Umstandes halber habe ich noch einige Gährungs-

[1]) Pasteur, Etudes sur la bière. 1876. Paris.

versuche, statt mit dem schwer zu beschaffenden Glycogen, mit Traubenzucker in grösserem Maassstabe wiederholt. 10 g Traubenzucker wurden in 200 g Wasser gelöst, als Ferment eine grössere Menge (10 g) Pankreas zugesetzt und bei 40° so lange digerirt, bis die von Zeit zu Zeit mit Soda neutralisirte Flüssigkeit nicht mehr saure Reaction annahm. Nach Abdestilliren des Aethers hinterblieb eine syrupdicke Flüssigkeit, welche, mit Zinkoxydhydrat gekocht, eine ziemlich grosse Quantität (0.7654 g) schön weissen, krystallinischen Salzes gab. Die Krystallwasser- und Zinkbestimmung des Salzes ergaben, dass es Gährungsmilchsäure war.

Es wurden gefunden in 0.4126 g bis zu constantem Gewichte getrockneter Substanz 0.0268 g Krystallwasser oder 18.22 Proc., in 0.3373 g Substanz 0.0899 g Zink oder 26.65 Proc.

Der gleiche Versuch war mit einer grösseren Menge — 20 g — Traubenzucker wiederholt und wie früher verarbeitet. In diesem Falle hinterliess aber der ätherische Auszug einen krystallinischen Rückstand, welcher nur aus Bernsteinsäure bestand. Die Elementaranalyse der einmal aus heissem Wasser umkrystallisirten Substanz ergab folgende Zahlen:

0.217 g der im Exsiccator über $H_2SO_4$ getrockneten Substanz gaben 0.3162 g $CO_2$ und 0.1044 g $H_2O$ oder in Procenten:

| Gefunden: | Berechnet: |
|---|---|
| 40.54 Proc. C | 40.68 Proc. C |
| 5.45 „ H | 5.08 „ H. |

Auch bei Luftausschluss, ähnlich wie mit Glycogen, wurde mit 20 g Traubenzucker, welchem als Ferment etwas Lebersaft zugesetzt wurde, der Versuch wiederholt. Das entweichende Gas war auch hier Kohlensäure, und die nichtflüchtige Säure bestand wenigstens vorwiegend aus Gährungsmilchsäure, wie aus folgenden Zahlen hervorgeht:

0.198 g der getrockneten Substanz gaben 0.0355 g Krystallwasser oder 17.93 Proc. 0.1623 g Substanz gaben 0.0429 g Zink oder 26.37 Proc.

Obwohl nun die Gährungsmilchsäure in vorwiegender Menge aus Glycogen entsteht, so zweifle ich nicht, dass auch die Paramilchsäure, wenn auch in geringer Menge, ebenfalls dabei auftritt. Die von dem gährungsmilchsauren Zink filtrirten Laugen enthalten stets ein in Alkohol und Wasser bedeutend löslicheres Salz, das jedenfalls paramilchsaures Zink ist.

Die Ausbeute an Gährungsmilchsäure aus Glycogen oder Traubenzucker war übrigens in allen meinen Versuchen nie gross. Sie betrug in den günstigsten Fällen etwa $^1/_{10}$ von dem Gewichte des angewandten Kohlehydrates.

Die Hauptmenge des Glycogens resp. Zuckers wird durch die Spaltpilze direct zu Kohlensäure und Wasser verbrannt.

Meine Beobachtungen über die Entstehung der Milchsäure bei der Spaltpilzgährung stimmen demnach durchaus überein mit denen, welche Maly [1]) gelegentlich seiner Untersuchung „über die Quelle der Magensaftsäuren“ gemacht hat. Aber eben so wenig wie Maly ist es mir gelungen, den Grund aufzufinden, weshalb in

[1]) Maly, Jahresber. f. Thierchem. 1874, S. 85.

einigen Fällen nur Fleischmilchsäure, in anderen wieder nur Gährungsmilchsäure entsteht.

Was die Bernsteinsäure betrifft, so wurde sie vor Kurzem von Salkowski[1]) unter den Fäulnissproducten des Fleisches gefunden. Salkowski vermuthete, dass die Bernsteinsäure erst secundär aus Asparaginsäure hervorgehe; bekanntlich ist die letztere Säure ein constantes Product der Eiweisszersetzung. Meine Versuche ergeben zweifellos, dass jedenfalls ein Theil der Bernsteinsäure bei der Fäulniss des Fleisches von dem Glycogen der Gewebe, also auch des Muskels, herstammt. Die Ergebnisse meiner Versuche lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Die postmortale saure Reaction der Gewebe ist die Folge der sofort nach dem Tode eintretenden Zersetzung der Gewebesäfte durch die Spaltpilze.

2. Es treten zuerst dabei flüchtige Fettsäuren auf, welche von der beginnenden Zersetzung des Eiweisses herrühren; sehr bald gesellen sich die von Glycogen herstammenden beiden Milchsäuren hinzu.

3. Je reicher das Gewebe an Kohlehydraten ist, um so länger erhält sich die saure Reaction desselben nach dem Tode; so namentlich Leber, Muskel, Lunge. Am kürzesten und relativ am schwächsten ist die saure Reaction beim Pankreas; in den späteren Stunden der Fäulniss bei der Bruttemperatur (20 bis 40 Stunden nach dem Tode) verschwinden die Milchsäuren, und statt deren tritt Bernsteinsäure auf. Früher oder später geht ausnahmslos bei allen Geweben die saure Reaction in alkalische über, indem nunmehr vorwiegend die Zersetzung des Eiweisses und die Bildung von viel Ammoniak eintritt.

Laboratorium von Prof. Nencki in Bern.

---

Die Oxydation des Aethylbenzols im Thierkörper von H. Genhart. In.-Diss. Bern. Eine nähere Beschreibung der Versuche, welche in dieser Dissertation angeführt sind, findet sich in oben abgedruckter Arbeit „Ueber die Oxydation der aromatischen Kohlenwasserstoffe im Thierkörper“ von M. Nencki und P. Giacosa. (Siehe diesen Band S. 508.) H.

---

# Zur Geschichte der Oxydationen im Thierkörper

von

**M. Nencki.**

Journ. prakt. Chem. **23**, 87.

Unter dem obigen Titel findet sich im 4. Bande der Zeitschr. f. physiol. Chem., S. 455 ein Aufsatz von E. Baumann und C. Preusse. Veranlassung dazu gab ihnen die im gleichen Bande der gleichen Zeitschrift S. 339 von mir und P. Giacosa publicirte Arbeit: „Ueber die Oxydation des Benzols durch Ozon und die Oxydationen im Thierkörper.“ (Vergl. diesen Band S. 517.) Abgesehen von

[1]) Ber. **12**, 651.

einigen ungerechtfertigten Ausfällen gegen mich hat der Aufsatz der Herrn Baumann und Preusse den Zweck, Prof. Hoppe-Seyler als denjenigen Forscher darzustellen, dem wir unsere sämmtlichen Kenntnisse über die physiologische Oxydation hauptsächlich zu verdanken haben. — Ich habe auf die Auseinandersetzung des Herrn Baumann in Giacosa's und meinem Namen Folgendes zu erwidern.

Veranlasst durch die Beobachtung Hoppe-Seyler's, dass Sauerstoff durch Palladiumwasserstoff activ gemacht wird, behaupteten die Herren Baumann und Preusse, dass dadurch ein Verständniss der Oxydationsvorgänge im Thierkörper überhaupt auf experimenteller Grundlage eröffnet werde. Wir haben uns erlaubt, dazu zu bemerken, dass insofern die Herren Baumann und Preusse mit diesem allgemeinen Ausspruch sagen wollen, dass im Momente, wo der Blutsauerstoff aus den Capillaren in die Gewebe übertritt, er aus dem indifferenten in den activen Zustand übergeht, als dass das Molekül $O_2$ in Atome ($O_2 = O + O$) zerfalle, wir mit ihrem Ausspruche einverstanden sind. Wenn aber die Herren Baumann und Preusse etwa der Ansicht sein sollten, dass auch in der lebendigen Thierzelle Sauerstoff durch nascirenden Wasserstoff activ gemacht werde, wir dieser Auffassung nicht zustimmen können. Wir halten es eben für unwahrscheinlich: 1. dass in den lebendigen thierischen Geweben Wasserstoff frei werde, und 2. betrachten wir die Hypothese von nascirendem Wasserstoff in den Organen zur Erklärung der physiologischen Oxydationen als vollkommen entbehrlich.

Die langathmige Erklärung, welche Baumann und Preusse jetzt geben, zeigt, dass wir richtig vermuthet haben. Sie sagen hierüber Folgendes: „Wir sind nun allerdings der Meinung, dass der nascirende Wasserstoff in den lebenden Geweben auftritt und bei der Activirung des Sauerstoffs in denselben eine Rolle spielt. Freilich wird der nascirende Wasserstoff sich ebenso wenig darstellen lassen, als der active Sauerstoff, an dessen Auftreten Nencki und Giacosa nicht zweifeln." Nun heisst es weiter: „Indessen ist bekannt, dass bei allen Fermentationen, bei welchen Wasserstoff gebildet wird, falls der Luftzutritt gehindert ist, diese Wasserstoffentwickelung latent wird, wofern der Sauerstoff Zutritt hat und die Fermentation langsam verläuft (Hoppe-Seyler)."

Der Sinn dieser Worte ist unverständlich und nur die Berufung auf Hoppe-Seyler lässt mich vermuthen, Baumann und Preusse wollen damit sagen, dass beim hinreichenden Zutritt von Sauerstoff der fermentative Wasserstoff zu Wasser oxydirt werde und deshalb nicht als solcher auftrete. Inwiefern dies richtig ist, werden wir weiter unten sehen. Dagegen möchte ich die Herren Baumann und Preusse darauf aufmerksam machen, dass der active Sauerstoff sich sehr wohl in pflanzlichen und thierischen Geweben nachweisen lässt und auch nachgewiesen wurde. Binz[1]) hat gezeigt, dass vielen pflanzlichen Geweben die Eigenschaft zukommt, das Guajakharz zu bläuen. His[2]) hat dies schon seit lange für die Leber nachgewiesen. Nach Versuchen von Binz kommt die Bläuung auch zu Stande, wenn man sich des Saftes frischer Mesenterialdrüsen mit etwa 30 Theilen Wasser

[1]) Virchow's Archiv **46**, 147.

[2]) Das. **10**, 487.

verdünnt bedient. Dasselbe hat vorher Klebs[1]) für den Eiter nachgewiesen. Für das Hämoglobin und Hämatin haben wir es durch die Untersuchungen von A. Schmidt kennen gelernt. Alle diese Thatsachen haben eben die genannten Forscher zu der Ueberzeugung geführt, dass in der lebendigen Zelle Sauerstoff activ gemacht werde.

Da aber Herr Baumann behauptet, dass meine Discussionen über die physiologische Verbrennung sich um nichts anderes, als um die Deutung oder Missdeutung der Untersuchungen Hoppe-Seyler's drehen, und er mich beschuldigt, dass ich die Entdeckung (!) Hoppe-Seyler's meinem Landsmanne Radziszewski zuschreibe, so sehe ich mich, weniger aus apologetischen und mehr aus didaktischen Gründen genöthigt, auf die Genesis und den gegenwärtigen Stand unseres Wissens von der physiologischen Oxydation einzugehen.

Der erste Versuch einer Erklärung, warum der durch die Lunge in das Blut aufgenommene indifferente Sauerstoff im Thierkörper Oxydationen bewirkte, rührt meines Wissens von Alex. Schmidt[2]) her. Schmidt fand zuerst, dass durch die rothen Blutkörperchen Guajaktinctur gebläut wird, und schloss hieraus auf die Anwesenheit des Ozons im Blute, welcher Auffassung auch Schönbein[3]) zustimmte. Seither wurden unsere Kenntnisse über die Natur des Ozons durch die Untersuchungen Soret's, welcher fand, dass das Ozonmolekül grösser als $O_2$ und wahrscheinlich $O_3$ sein müsse, wesentlich erweitert. Die naheliegende Erklärung, weshalb Ozon stark oxydirend wirke, hat Clausius[4]) gegeben. Alle Vorgänge, sagt er, welche den Sauerstoff ozonisiren, spalten das Molekül in Einzelatome, und diese haben natürlich eine ungleich stärkere Tendenz, sich auf oxydirbare Körper zu werfen. In einer gegebenen Quantität Sauerstoff wird immer nur ein kleiner Theil in $O + O$ verwandelt. Es bleibt eine Menge von unzerlegten Molekülen $O_2$ übrig und an diese fügen sich die Atome O an, um $O_3$ zu bilden. Da aber die Anfügung nur mit geringerer Kraft stattfindet, so enthält das neugebildete Molekül $O_3$ zwei stark gebundene und ein schwach gebundenes Atom, und das letztere kann chemisch beinahe ebenso wirken wie ein freies Atom.

Durch die Publication von Huizinga[5]) und die spätere von Nasse[6]) wurde die Annahme Alex. Schmidt's, dass das Blut Ozon enthalte, als unhaltbar erwiesen. Nachdem Huizinga die Unsicherheit der Reaction mit Tinctura guajaci hervorgehoben, spricht Nasse sich dahin aus: „Die sogenannten Ozonreagentien sind Stoffe, welche zunächst das Ozonmolekül in ein Molekül gewöhnlichen Sauerstoffes und ein freies Atom Sauerstoff spalten und von dem letzteren angegriffen werden. So hat man es denn im Grunde nur mit Sauerstoff im status nascens zu thun, die sogenannten Ozonreactionen sind eigentlich nur Reactionen auf Sauerstoff

[1]) Verhandl. der Berner naturforsch. Ges. April 1868.
[2]) Ueber Ozon im Blute. Dorpat 1862.
[3]) Ueber das Verhalten des Blutes zum Sauerstoff. Sitzungsb. d. königl. bayer. Akad. d. Wiss. zu München 1863, **1**, 274.
[4]) Pogg. Ann. **121**, 250.
[5]) Virchow's Archiv **42**, 359. 1868.
[6]) Pflüger's Archiv **3**, 205. 1870.

im status nascens." Die Ozonreactionen im Blute und in den Geweben des Thierkörpers rühren daher nicht von dem Ozon her, sondern von dem activen Sauerstoff = $O_1$. Dass das Molekül Sauerstoff = $O_2$ im Thierkörper in seine Atome zerlegt werde, dass die Oxydationen im Thierkörper durch die losgerissenen Sauerstoffatome geschehen und alle die Reactionen der Gewebe, wie namentlich Bläuung des Guajakharzes, von diesem als $O_1$ activen Sauerstoff herrühren, hat Binz[1]) bereits im Jahre 1872 ausgesprochen.

Nachdem andererseits die Arbeiten von Hoppe-Seyler und seinen Schülern[2]), sowie die von Preyer[3]) ergeben haben, dass der an das Hämoglobin gebundene Sauerstoff nicht oxydirend wirke, und dass das Oxyhämoglobin sehr wahrscheinlich eine Verbindung von einem Molekül Hämoglobin mit einem Molekül Sauerstoff (Hb + $O_2$) ist; nachdem ferner durch die Versuche Pflüger's[4]) und seiner Schüler, Hoppe-Seyler's, Schützenberger's[5]) und a. m. festgestellt wurde, dass die Oxydationen nur zum geringsten Theil im Blute, hauptsächlich aber in den Geweben geschehen, war das Bild, welches wir uns von der physiologischen Verbrennung machen konnten, ungefähr folgendes: Der durch die Lungen in das Blut aufgenommene atmosphärische Sauerstoff verbindet sich mit dem Hämoglobin zu einer leicht dissociirbaren, nicht oxydirenden Verbindung, dem Oxyhämoglobin = Hb + $O_2$. In den Capillaren erfolgt die Dissociation des Oxyhämoglobins. Der Sauerstoff als $O_2$ geht durch die Capillarwand in das umliegende Gewebe, wird dort activ, d. h. in Atome zerlegt, und bewirkt so die Oxydation der verbrennbaren Bestandtheile der Gewebe.

Bekanntlich hat nun vor Kurzem Hoppe-Seyler[6]) die Beobachtung gemacht, dass ein mit Wasserstoff genügend beladenes Palladiumblech, in Sauerstoffgas eingeführt, nicht allein schnell Wasser bildet, sondern auch energische Oxydationen daneben auszuführen im Stande ist. Der Vorgang wurde von ihm so erklärt, dass der Wasserstoff, indem er sich aus dem Molekül $O_2$ ein Atom O aneignet, das andere Atom O frei macht, also in den status nascens versetzt, „activ" macht. Hoppe-Seyler sagt ferner, „dass der nascirende Wasserstoff (natürlich nur am Orte, wo er als Atom aus einer Verbindung gelöst wird) stets unter allen Verhältnissen die Fähigkeit habe, Sauerstoff in Activität zu versetzen" [7]), und ist geneigt anzunehmen, ohne es jedoch direct auszusprechen, dass auch die lebendigen Gewebe des Thierkörpers nascirenden Wasserstoff bilden und derselbe die Quelle der Activirung des Sauerstoffs in den Organismen sei. Erst die Herren Baumann und Preusse geben die Erklärung ab, dass dem so sei.

Ich will nun zunächst zeigen, dass der Vordersatz, auf welchen Hoppe-Seyler

[1]) Berl. klin. Wochenschrift 1872, Nr. 30.

[2]) Dybkowsky in Hoppe-Seyler's med. chem. Untersuch., Berlin 1866 bis 1871, S. 117 und Hoppe-Seyler, das. S. 133.

[3]) Ueber die Kohlensäure und den Sauerstoff im Blute, Med. Centralbl. 1866, S. 325.

[4]) Pflüger's Archiv **1**, 274; **6**, 43; **15**, 381 u. a. m.

[5]) Bull. de la Soc. chim. **21**, 286, und Les Fermentations, p. 108.

[6]) Zeitschrift f. physiolog. Chem. **2**, 22, und Ber. **12**, 1551.

[7]) Ber. **12**, 1553.

seine Hypothese gründet, nicht richtig ist. Er sagt nämlich Folgendes: „Ausgehend von der unumgänglichen Annahme einer ergiebigen Quelle der Activirung des Sauerstoffs innerhalb der Organismen habe ich zunächst unter etwas einfacheren Verhältnissen, wie sie bei der Fäulniss auftreten, Aufschlüsse zu finden gesucht und mich bald überzeugt, dass die Bildung von freiem Wasserstoffgas nur dort erfolgt, wo Sauerstoff nicht zugegen ist, dass dagegen bei Zutritt von Sauerstoff zu faulenden Flüssigkeiten nicht allein der nascirende Wasserstoff oxydirt wird, sondern auch energische Oxydationsprocesse eintreten.“ Ich sage aber, die Angabe, dass bei der Fäulniss die Bildung von freiem Wasserstoffgas nur dort erfolgt, wo Sauerstoff nicht zugegen ist, ist einfach nicht wahr. Jedermann kann sich leicht überzeugen, dass z. B. bei der Fäulniss des Pankreas, auch wenn noch so viel Sauerstoff vorhanden, reichliche Wasserstoffentwickelung stattfindet. Ich habe dies schon früher vielfach beobachtet und neuerdings auch quantitative Analysen der Gase ausgeführt.

In einen Kolben von 3.5 Liter Inhalt wurden 500 g frisches, von Fett herauspräparirtes, klein zerhacktes Ochsenpankreas und 1 Liter Wasser gethan; nachdem der Kolben sodann ganz mit reinem Sauerstoff gefüllt war, wurde die Masse bei 40° der Fäulniss überlassen und von Zeit zu Zeit umgeschüttelt. Sobald die Gasentwickelung begann, konnte man sich leicht von der Anwesenheit des Wasserstoffs überzeugen, indem die entweichenden Gasblasen angezündet verpufften. Nach 10 Stunden, nachdem bereits seit längerer Zeit die Gasentwickelung bestand, wurde eine Probe des Gases aufgefangen und analysirt. Nach weiteren 10 Stunden, hauptsächlich um zu sehen, ob das entweichende Gas überhaupt noch Sauerstoff enthielt, wurde eine zweite Probe des Gases zur Analyse aufgefangen. Die erhaltenen Zahlen, auf 100 Vol. trockenen Gases bezogen, ergaben folgende Zusammensetzung:

| Nr. 1 | | | Nr. 2 | | |
|---|---|---|---|---|---|
| $CO_2$ | 49.2 | Vol.-Proc. | $CO_2$ | 64.0 | Vol.-Proc. |
| $SH_2$ | 0.6 | „ | $SH_2$ | 1.2 | „ |
| H | 23.4 | „ | H | 18.1 | „ |
| $CH_4$ | 0.8 | „ | $CH_4$ | 0.9 | „ |
| O | 25.4 | „ | O | 15.0 | „ |
| N | 3.7 | „ | N | 1.1 | „ |

Wie man sieht, war in beiden Gasproben mehr Sauerstoff vorhanden, als nöthig zur Oxydation des Wasserstoffs zu Wasser. Bei der Fäulniss des Eiweisses auch im reinen Sauerstoffgase wird ebenso Wasserstoff entwickelt, wie bei vollkommenem Ausschluss von Sauerstoff. Dass ein geringer Theil des frei werdenden Wasserstoffs durch Sauerstoff oxydirt werde, will ich nicht in Abrede stellen, obgleich Beweise dafür nicht vorliegen. Jedenfalls bin ich der Ansicht, dass bei der Fäulniss die Oxydation des frei werdenden Wasserstoffs zu Wasser eine rein nebensächliche, für das Leben der Fäulnissbacterien unwesentliche Erscheinung ist. Aehnlich wie bei der Alkoholgährung des Zuckers der entstandene Alkohol ein Product der Lebensprocesse der Hefe ist, ähnlich verhält es sich mit der Wasserstoffbildung bei den Spaltpilzgährungen. Wenn die Milchsäure bei der Buttersäuregährung nach der Gleichung $(C_3H_6O_3)_2 = C_4H_8O_2 + 2CO_2 + 2H_2$ zerlegt wird, so ist der dabei gebildete Wasserstoff ein Product der Lebensprocesse des die Buttersäuregährung

verursachenden Spaltpilzes. Das Gleiche gilt von der Fäulniss. Auf welche Weise auch ohne Zutritt von Sauerstoff bei der Eiweissfäulniss die Oxydationen geschehen, habe ich, gestützt auf den Umstand, dass bei der Fäulniss die gleichen Producte wie durch Alkali gebildet werden, in meiner Abhandlung „Ueber den chemischen Mechanismus der Fäulniss" [1]) auseinandergesetzt.

Dass der fermentative Wasserstoff reducirend wirkt, ist mir wohl bekannt. Nur bin ich mit Fitz einverstanden, dass es nicht richtig ist, dem Gährungswasserstoff so weitgehende Reductionswirkungen zuzuschreiben, wie dies von gewisser Seite geschieht. Nach Fitz [2]) führt Gährungswasserstoff Invertzucker in Mannit über, er reducirt Nitrate und führt Indigblau in Indigweiss über. Dagegen werden Sulfate von ihm nicht verändert, und was die angebliche Reduction von Milchsäure zu Propionsäure anbelangt, so wird zur Widerlegung die Thatsache angeführt, dass bei der reinen Buttersäuregährung des milchsauren Kalkes keine Spur Propionsäure gebildet wird.

Aus allem Vorhergegangenen ist ersichtlich, dass ich die Arbeit Hoppe-Seyler's weder zu deuten noch misszudeuten nöthig hatte; denn abgesehen von der an und für sich interessanten Thatsache, dass Palladiumwasserstoff den Sauerstoff activ macht, enthält sie sonst weder viel Neues noch Richtiges. Allerdings sagt Hoppe-Seyler, dass nicht allein der nascirende Wasserstoff unter allen Verhältnissen die Fähigkeit habe, Sauerstoff in Activität zu versetzen, sondern es sei anzunehmen, dass auch andere Stoffe, welche mit Begierde den indifferenten Sauerstoff sich anzueignen vermögen, dieselbe Wirkung ausüben. Als solche Stoffe führt er Phosphor, alkalische Pyrogallollösung und das Natrium an. Herr Baumann bemerkt noch dazu, „die Nachfolger Hoppe-Seyler's auf diesem Untersuchungsgebiete werden die Zahl dieser Stoffe ohne grosse Mühe noch wesentlich vergrössern können". Er hätte eigentlich noch hinzufügen sollen, dass die Vorgänger Hoppe-Seyler's, wahrscheinlich auch ohne grosse Mühe, dies bereits gethan haben: denn ausser den oben genannten Autoren haben bekanntlich noch Schönbein, Löw, Schär, Fudakowski, Berthelot u. A. gezeigt, dass eine grosse Anzahl organischer Körper existirt, welche die Eigenschaft besitzen, bei langsamer Oxydation die Sauerstoffmoleküle in Atome zu spalten.

Da aber weder Phosphor, noch alkalische Pyrogallollösung oder Natrium im Thierkörper vorkommen und die Bildung des nascirenden Wasserstoffs in lebendigen Geweben zum mindesten sehr problematisch ist, so bin ich noch immer der Ansicht, dass zur Erklärung, auf welche Weise in den Geweben Sauerstoff activ gemacht wird, es hauptsächlich auf die nicht grosse Mühe ankam, solche Stoffe und die Bedingungen aufzufinden, welche den Sauerstoff activ machen und welche im Thierkörper vorkommen. Dies ist durch die Arbeiten Radziszewski's [3]) geschehen. Er hat zuerst mit Sicherheit nachgewiesen, dass während des Leuchtens, sowie überhaupt während sehr langsamer oder stürmischer Oxydation Spaltung der Sauerstoff-

---

[1]) Journ. f. prakt. Chem. [2] **17**, 105. — Dieser Band S. 376.

[2]) Ber. **12**, 480.

[3]) Ann. Chem. Pharm. **203**, 305.

moleküle stattfindet und die Phosphorescenz auf langsamer Oxydation durch den activen Sauerstoff beruht. Er hat ferner gezeigt, dass die so oft in lebendigen Organismen angetroffenen Körper, wie Lecithin, Fette, Protagon, Cholesterin, Spermacet, Wachs, Gallensäuren, Traubenzucker u. a. m., bei Gegenwart von freiem Alkali den Sauerstoff activ machen. Da aber anorganische Basen, wie Kali, Natron, Kalk, Baryt, Magnesia und selbst Kaliumcarbonat, in grösserer Menge weder in lebendigen, noch in todten Organismen vorkommen, so stellte er sich die Aufgabe, solche Basen aufzufinden, die entweder stets in den lebendigen Organismen vorkommen, oder wenigstens in gewissen Fällen darin entstehen können. Er fand, dass Neurin sowie die Basen von der allgemeinen Formel $R_4$—N—OH die oben erwähnten unorganischen Basen vollständig zu ersetzen im Stande sind.

Durch die Untersuchungen Radziszewski's wissen wir, dass es eine allgemeine Eigenschaft oxydirbarer organischer Verbindungen ist, bei Gegenwart von Alkali das Molekül des indifferenten atmosphärischen Sauerstoffs in seine Atome zu spalten. Damit ist eine breite Grundlage für weitere Forschungen über die physiologische Oxydation gegeben. Es eröffnet sich die Aussicht, dass wir ausserhalb des Organismus die physiologische Oxydation in allen Phasen werden nachahmen können. Bekanntlich werden einige aromatische Substanzen und namentlich aromatische Kohlenwasserstoffe im Thierkörper in der Weise oxydirt, wie wir dies ausserhalb desselben durch die gewöhnlichen Oxydationsreagentien nicht nachahmen können. Nach brieflicher Mittheilung von Prof. Radziszewski liefert Benzol, mit Natriumhydroxyd und Luft geschüttelt, reines Phenol. Unter den gleichen Bedingungen geben Toluol und Aethylbenzol Benzoësäure, Mesitylen Mesitylensäure. Die interessanteste Beobachtung betrifft das Camphercymol, das, mit Natronhydrat oder Tetramethylammoniumoxydhydrat an der Luft geschüttelt, zu Cuminsäure oxydirt wird. Die Identität der Säure mit der aus Cuminaldehyd erhaltenen wurde durch Analysen der freien Säure, des Baryumsalzes und den Schmelzpunkt bestätigt. Die Oxydation aller dieser Kohlenwasserstoffe vollzog sich demnach hier genau so wie im Thierkörper.

Bern, im November 1880.

# 1881

## Ueber die physiologische Verbrennung.

Vortrag von Prof. **Nencki.**

Correspondenz-Blatt für Schweiz. Aerzte. Jahrg. 11.

Die alltägliche Erfahrung zeigt, dass die Bestandtheile unserer Nahrung: wie Eiweissstoffe, Fette, Kohlehydrate, auch bei der Körpertemperatur dem atmosphärischen Sauerstoff exponirt, nur sehr langsame und unwesentliche Veränderungen erleiden, falls die Gährung und Fäulniss bewirkenden Organismen abgehalten werden. Nachdem aus verschiedenen Gründen erkannt wurde, dass die einfachen Gase nicht als Atome, sondern als Moleküle in freiem Zustande existiren, folglich auch der atmosphärische Sauerstoff nicht O, sondern $O_2$ ist, war die Indifferenz des atmosphärischen Sauerstoffs gegen die oxydirbaren, kohlenstoffhaltigen Verbindungen erklärt. Nur Sauerstoff als Atom wirkt oxydirend, und überall da, wo Oxydationen kohlenstoffhaltiger Substanzen an der Luft geschehen, muss man annehmen, dass ihnen die Fähigkeit zukommt, das Molekül des indifferenten atmosphärischen Sauerstoffs in seine Atome zu spalten. Den Sauerstoff, dessen wir zur Oxydation unserer Nahrungsstoffe bedürfen, entnehmen wir der Luft. Es muss also auch in unserem Organismus ebenfalls die Spaltung der Sauerstoffmoleküle in seine Atome vor sich gehen; und wenn man bedenkt, dass wir täglich 700 bis 950 g Sauerstoff durch die Lunge aufnehmen, so leuchtet es ein, dass diese Spaltung der Sauerstoffmoleküle in seine Atome, auf welcher die physiologische Verbrennung beruht, eine sehr umfangreiche ist.

Der erste Versuch einer Erklärung, warum der durch die Lunge in das Blut aufgenommene indifferente Sauerstoff im Thierkörper Oxydationen bewirke, rührt von Alex. Schmidt her (Ueber Ozon im Blute. Dorpat 1862). Schmidt fand zuerst, dass durch die rothen Blutkörperchen Guajaktinctur gebläut wird und schloss hieraus auf die Anwesenheit des Ozons im Blute, welcher Auffassung auch Schönbein zustimmte. (Ueber das Verhalten des Blutes zum Sauerstoff, Sitzungsbericht d. königl. bayer. Akad. d. Wissensch. in München, 1863, 1, 274.) Seither wurden unsere Kenntnisse über die Natur des Ozons durch die Untersuchungen Soret's,

welcher fand, dass das Ozonmolekül grösser als $O_2$ und wahrscheinlich $O_3$ sein müsse, wesentlich erweitert. Die naheliegende Erklärung, weshalb Ozon stark oxydirend wirke, hat Clausius (Pogg. Ann. **121**, 250) gegeben. Alle Vorgänge, sagt er, welche den Sauerstoff ozonisiren, spalten das Molekül in Einzelatome und diese haben natürlich eine ungleich stärkere Tendenz, sich auf oxydirbare Körper zu werfen. In einer gegebenen Quantität Sauerstoff wird immer nur ein kleiner Theil in O + O verwandelt. Es bleibt eine Menge von unzerlegten Molekülen $O_2$ übrig und an diese fügen sich die Atome an, um $O_3$ zu bilden. Da aber die Anfügung nur mit geringer Kraft stattfindet, so enthält das neu gebildete Molekül $O_3$ zwei stark gebundene und ein schwach gebundenes Atom und das letztere kann chemisch beinahe ebenso wirken, wie ein freies Atom.

Durch die Publication von Huizinga (Virchow's Archiv **42**, 359, 1868) und die spätere von Nasse (Pflüger's Archiv **3**, 205, 1870) wurde die Annahme Alex. Schmidt's, dass das Blut Ozon enthalte, als unhaltbar erwiesen. Nachdem Huizinga die Unsicherheit der Reaction mit Tinctura guajaci hervorgehoben, spricht Nasse sich dahin aus: „Die sogenannten Ozonreagentien sind Stoffe, welche zunächst das Ozonmolekül in ein Molekül gewöhnlichen Sauerstoffs und ein freies Atom Sauerstoff spalten und von dem letzteren angegriffen werden. So hat man es denn im Grunde nur mit Sauerstoff im Status nascens zu thun, die sogenannten Ozonreactionen sind eigentlich nur Reactionen auf Sauerstoff im Status nascens." Die Ozonreactionen im Blute und in den Geweben des Thierkörpers rühren daher nicht von dem Ozon her, sondern von dem activen Sauerstoff $= O_1$. Dass das Molekül Sauerstoff $= O_2$ im Thierkörper in seine Atome zerlegt werde, dass die Oxydationen im Thierkörper durch die losgerissenen Sauerstoffatome geschehen und alle die Reactionen der Gewebe, wie namentlich Bläuung des Guajakharzes, von diesem als O activen Sauerstoff herrühren, hat Binz (Berl. klin. Wochenschr. 1872, Nr. 30) bereits im Jahre 1872 ausgesprochen.

Nachdem andererseits die Arbeiten von Hoppe-Seyler und seinen Schülern (Dybkowsky in Hoppe-Seyler's med.-chem. Untersuch. Berlin, 1866 bis 1871, S. 117, Hoppe-Seyler's ebendaselbst S. 133), sowie die von Preyer (Ueber die Kohlensäure und den Sauerstoff im Blute, Med. Centralbl. 1866, S. 325) ergeben haben, dass der an das Hämoglobin gebundene Sauerstoff nicht oxydirend wirke und dass das Oxyhämoglobin sehr wahrscheinlich eine Verbindung von einem Molekül Hämoglobin mit einem Molekül Sauerstoff ($Hb + O_2$) ist; nachdem ferner durch die Versuche Pflüger's (Pflüger's Archiv **1**, 274; **6**, 43; **15**, 381 u. a. m.) und seiner Schüler, Hoppe-Seyler's, Schützenberger's (Bull. de la Soc. chim. **21**, 286 und les fermentations p. 108) u. a. m. festgestellt wurde, dass die Oxydationen nur zum geringsten Theile im Blute, hauptsächlich aber in den Geweben geschehen, war das Bild, welches wir uns von der physiologischen Verbrennung machen konnten, ungefähr folgendes: Der durch die Lungen in das Blut aufgenommene atmosphärische Sauerstoff verbindet sich mit dem Hämoglobin zu einer leicht dissociirbaren, nicht oxydirenden Verbindung, dem Oxyhämoglobin $= Hb + O_2$. In den Capillaren erfolgt die Dissociation des Oxyhämoglobins. Der Sauerstoff als $O_2$ geht durch die Capillarwand in das umliegende Gewebe, wird dort

activ, d. h. in Atome zerlegt und bewirkt so die Oxydation der verbrennbaren Bestandtheile der Gewebe.

Warum spalten denn aber die thierischen Gewebe, d. h. der Inhalt der Zellen und die Säfte das Sauerstoffmolekül in seine Atome? Auf welche Weise, nach welchem chemischen Modus geschieht diese Spaltung? Die Antwort auf diese Fragen ist erst in der neuesten Zeit durch die Arbeiten Radziszewski's: Ueber die Phosphorescenz organischer und organisirter Körper, gegeben worden. Er hat zuerst mit Sicherheit nachgewiesen, dass während des Leuchtens, sowie überhaupt während sehr langsamer oder stürmischer Oxydation Spaltung der Sauerstoffmoleküle stattfindet und die Phosphorescenz auf langsamer Oxydation durch den activen Sauerstoff beruht. Er hat ferner gezeigt, dass die so oft in lebendigen Organismen angetroffenen Körper, wie Lecithin, Fette, Protagon, Cholesterin, Spermacet, Wachs, Gallensäuren, Traubenzucker u. a. m., bei Gegenwart von freiem Alkali den Sauerstoff activ machen. Da aber anorganische Basen, wie Kali, Natron, Baryt, Magnesia und selbst Kaliumcarbonat, in grösserer Menge weder in lebendigen, noch in todten Organismen vorkommen, so stellte er sich die Aufgabe, solche Basen aufzufinden, die entweder stets in den lebendigen Organismen vorkommen, oder wenigstens in gewissen Fällen darin entstehen können. Er fand, dass Neurin, sowie die Basen von der allgemeinen Formel $R_4$—N—OH die oben erwähnten unorganischen Basen vollständig zu ersetzen im Stande sind.

Durch die Untersuchungen Radziszewski's (Ann. Chem. Pharm. **203**, 305) wissen wir, dass es eine allgemeine Eigenschaft oxydirbarer organischer Verbindungen ist, bei Gegenwart von Alkali das Molekül des indifferenten atmosphärischen Sauerstoffs in seine Atome zu spalten. Damit ist eine breite Grundlage für weitere Forschungen über die physiologische Oxydation gegeben. Es eröffnet sich die Aussicht, dass wir ausserhalb des Organismus die physiologische Oxydation in allen Phasen werden nachahmen können. Nach letzten Mittheilungen von Prof. Radziszewski liefert Benzol, mit Natriumhydroxyd und Luft geschüttelt, reines Phenol. Unter den gleichen Bedingungen geben Toluol und Aethylbenzol Benzoësäure, Mesitylen — Mesitylensäure. Die interessanteste Beobachtung betrifft das Camphercymol, das mit Natronhydrat oder Tetramethylammoniumoxydhydrat, an der Luft geschüttelt, zu Cuminsäure oxydirt wird. Die Identität der Säure mit der aus Cuminaldehyd erhaltenen wurde durch Analysen der freien Säure, des Baryumsalzes und den Schmelzpunkt bestätigt. Die Oxydation aller dieser Kohlenwasserstoffe vollzog sich demnach hier genau so wie im Thierkörper.

Unaufgeklärt bleibt noch die Rolle des Alkalis, ohne welche die Phosphorescenz, d. h. langsame Oxydation und Spaltung der Sauerstoffmoleküle in Atome, nicht stattfindet.

## Berichtigung

von

**M. Nencki.**

Ber. **14**, 1144. (Eingegangen am 1. Mai; verlesen in der Sitzung von Herrn A. Pinner.)

In dem letztausgegebenen Hefte dieser Berichte finde ich eine Mittheilung von Herrn Albert R. Leeds „Ueber die Einwirkung von Ozon, nascirendem Sauerstoff und Wasserstoffsuperoxyd auf Benzol", die ich in zwei Punkten berichtigen will.

Herr Leeds findet, dass durch Einwirkung von Ozon auf Benzol kein Phenol entsteht. Offenbar waren ihm meine hierüber gemeinschaftlich mit Giacosa publicirten Untersuchungen [1]) unbekannt. Wenn Herr Leeds unsere Versuche wiederholt, so wird er sich überzeugen, dass bei der von uns getroffenen Versuchsanordnung durch Einwirkung von Ozon auf Benzol in geringen Mengen Phenol entsteht.

Sodann sagt Herr Leeds, dass ausser der von Hoppe-Seyler beschriebenen Bildung durch Palladiumwasserstoff und der von ihm beobachteten durch Wasserstoffsuperoxyd, bisher, soweit es ihm bekannt, Phenol nur auf indirectem Wege aus Benzol erhalten wurde. Dem gegenüber will ich bemerken, dass ich in meiner Abhandlung „Zur Geschichte der Oxydation im Thierkörper" [2]) die Beobachtungen Radziszewski's mittheilte, dass Benzol, mit Natriumhydroxyd und Luft geschüttelt, zu Phenol oxydirt wird und unter den gleichen Bedingungen Toluol und Aethylbenzol Benzoësäure, Mesitylen Mesitylensäure und Cymol Cuminsäure geben.

Bern, im April 1881.

---

## Ueber die Verbindungen der ein- und zweibasischen Fettsäuren mit Phenolen

von

**M. Nencki** und **N. Sieber.**

### Erste Mittheilung.

Journ. f. prakt. Chem. **23**, 147.

Resorcin und Eisessig, mit Chlorzink, als wasserentziehendes Mittel, erwärmt, vereinigen sich leicht zu einer neuen Verbindung, die ihrer Zusammensetzung und ihren Eigenschaften nach ein Dioxyacetophenon ist. Die Bildung dieser Substanz erfolgt nach der Gleichung: $C_6H_6O_2 + C_2H_4O_2 = C_6H_3(C_2H_3O)O_2 + H_2O$. Zu ihrer Darstellung werden am zweckmässigsten 1.5 Gewichtsthle. Chlorzink in

[1]) Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. physiolog. Chem. **4**, 339 und referirt in Bericht 1880, S. 2001. — Dieser Band S. 577.

[2]) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **23**, 96. — Dieser Band S. 566.

1.5 Gewichtsthln. Eisessig in der Wärme gelöst, der Flüssigkeit 1 Gewichtsthl. Resorcin zugesetzt und im offenen Kolben auf dem Sandbade erhitzt. Bei 145° bis 150° kommt die Flüssigkeit in lebhaftes Sieden. Man entfernt die Flamme und lässt die Reaction sich auf dem Sandbade vollenden. Um die Bildung harziger Producte zu vermeiden, ist es nur nöthig, darauf zu achten, dass die Temperatur nicht über 150° steigt. Nach dem Erkalten mit Wasser versetzt, erstarrt die Schmelze zu einem aus der neuen Verbindung bestehenden Krystallbrei. Während des Erhitzens nimmt die Flüssigkeit allmählich eine schöne, gelbrothe Farbe an. Wird sie über 150° erhitzt, oder längere Zeit bei 150° erhalten, so wird die Nuance eine tief rothe und durch weitere Einwirkung des Chlorzinks auf die entstandene Substanz entsteht ein harziges, in Alkalien mit violetter Farbe lösliches Product, wodurch natürlich die Ausbeute an der krystallinischen Substanz geringer wird.

Die abgeschiedenen, braun gefärbten Krystalle werden zur Entfernung des Chlorzinks mit verdünnter Salzsäure gewaschen. Sie lösen sich in Alkalien mit tief violetter Farbe auf. Durch längeres Kochen der alkalischen Lösung wird die Farbe offenbar in Folge allmählicher Zerstörung des Farbstoffes schmutzigbraun. Salzsäure fällt aus der verdünnten alkalischen Lösung die neue Verbindung unverändert aus. Die weitere Reinigung der in Wasser schwer löslichen Substanz geschah durch wiederholte Krystallisation aus verdünnter Salzsäure unter Zusatz von Thierkohle. Sie wird so in weissen rhombischen Blättchen oder Nadeln rein erhalten. Die an der Luft getrockneten Krystalle verloren im Exsiccator über Schwefelsäure nichts mehr an Gewicht, und ihre Elementaranalyse ergab folgende Zahlen:

0.2259 g der Substanz gaben 0.5211 g $CO_2$ und 0.1148 g $H_2O$ oder in Procenten auf C und H berechnet: gefunden C 62.91 Proc. und H 5.64 Proc. Die Verbindung $C_8H_8O_3$ enthält C 63.15 Proc. und H 5.26 Proc.

Im Capillarröhrchen schmilzt die Substanz bei 142°. Sie lässt sich nicht ohne Zersetzung destilliren. Bis zum Sieden erhitzt, geht Anfangs bei 303 bis 305° ein farbloses Destillat über, das aber bald braun wird. Die Temperatur steigt allmählich bis über den Siedepunkt des Quecksilbers und der Retorteninhalt verharzt; auch beim verminderten Luftdrucke war sie nicht ohne Zersetzung destillirbar. Im Vacuum des Hoffmann'schen Apparates vergaste sie sich bei der Temperatur des siedenden Anilins nicht. Gegen Säuren und Alkalien ist die Substanz sehr beständig. Sie kann längere Zeit, ohne jede Veränderung, damit gekocht werden, und erst durch Schmelzen mit Kalihydrat wird sie zersetzt. Von kalter concentrirter Schwefelsäure wird sie gelöst und durch Wasserzusatz unverändert abgeschieden. Wie aus der empirischen Formel ersichtlich, könnte die Substanz entweder als das bis jetzt unbekannte Monoacetylresorcin, oder, falls das Acetyl einen Wasserstoff des Benzolkerns substituirte, als ein Dioxyacetophenon angesehen werden. Wenn schon die Beständigkeit der Verbindung für die Annahme sprach, dass das Acetyl einen Benzolwasserstoff und nicht den hydroxylischen substituirte, so hat die Darstellung einer Acetylverbindung unserer Substanz und Vergleich derselben mit dem zuletzt von Malin[1]) dargestellten Diacetylresorcin zu Gunsten dieser Annahme entschieden.

[1]) Ann. Chem. Pharm. **138**, 78.

Nachdem wir gesehen haben, dass sowohl Chloracetyl als auch Essigsäureanhydrid auf unsere Substanz einwirken, wurde 1 Gewichtsthl. der letzteren mit 3 Gewichtsthln. Essigsäureanhydrid am Rückflusskühler etwa eine Stunde lang im gelinden Sieden erhalten und sodann die Flüssigkeit aus einem Fractionirkölbchen destillirt. Nachdem Essigsäurehydrat, sowie das überschüssige Anhydrid übergingen, stieg der Quecksilberfaden rasch bis auf 303°, bei welcher Temperatur bis auf einen kleinen Rest fast alles überging. Die bei 303° übergegangene Fraction erstarrte sowohl in der Vorlage, wie im Kühlrohr krystallinisch und wurde zur Entfernung des ihm noch anhaftenden Essiganhydrids aus absolutem Alkohol zweimal umkrystallisirt. Der Schmelzpunkt der in feinen weissen Nadeln krystallisirenden Substanz lag bei 72°, und ihre Elementaranalyse zeigte, dass sie mit dem Malin'schen Diacetylresorcin isomer ist.

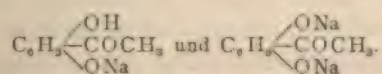
0.3379 g der über $SO_4H_2$ bis zu constantem Gewichte getrockneten Substanz gaben 0.7634 g $CO_2$ und 0.1638 g $H_2O$, oder in Procenten: C 61.61 Proc. und 5.38 Proc. H. Die Verbindung $C_6H_4(C_2H_3O)_2O_2$ enthält C 61.85 Proc. und 5.15 Proc.

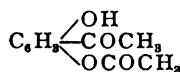
Malin erhielt das Diacetylresorcin durch Einwirkung von Chloracetyl auf Resorcin bei 100° und beschreibt es als ein farb- und geruchloses, in Wasser unlösliches, nicht krystallisirendes Oel. Um uns von der Verschiedenheit unserer Acetylverbindung von dem Malin'schen Producte zu überzeugen, haben wir reines, trockenes Resorcin mit dem dreifachen Gewichte Essigsäureanhydrid 2 Stunden lang am Rückflusskühler gekocht und sodann der fractionirten Destillation unterworfen. Sobald das Anhydrid überdestillirte, stieg die Temperatur rasch auf 272°, und zwischen 272 bis 280° ging der ganze Rest über. Diese Fraction wurde noch einmal rectificirt, wobei sie einen constanten Siedepunkt von 273° (708 mm Baromst.) hatte. Ihre Elementaranalyse zeigte, dass sie reines Diacetylresorcin von Malin war.

0.2761 g der Substanz gaben 0.6251 g $CO_2$ und 0.1263 g $H_2O$, oder auf C und H berechnet: 61.74 Proc. C und 5.08 Proc. H. Die Verbindung $C_6H_4(C_2H_3O)_2O_2$ enthält C 61.85 Proc. und 5.15 Proc. H.

Da die farb- und geruchlose Flüssigkeit auch nach wochenlangem Stehen im Exsiccator nicht krystallisirte, so ist nicht zu bezweifeln, dass sie von unserer Acetylverbindung verschieden und folglich das aus Eisessig und Resorcin erhaltene Product ein Dioxyacetophenon ist. Im übrigen giebt sowohl das Malin'sche Diacetylresorcin als auch Resorcin und Essigsäureanhydrid beim Erwärmen mit Chlorzink ebenfalls unser Dioxyacetophenon. Bemerkenswerth ist es immerhin, dass auch durch längeres Kochen mit überschüssigem Essigsäureanhydrid nicht die Diacetylverbindung des Dioxyacetophenons erhalten wurde.

Eine alkoholische Dioxyacetophenonlösung, mit alkoholischem Natron versetzt, bildet sofort ein in weissen Nadeln krystallisirendes Natronsalz, das aber an der Luft sich bald stark bräunt, und deshalb ergaben auch die Natriumbestimmungen der mit Alkohol gewaschenen und im Exsiccator getrockneten Substanz keine übereinstimmenden Zahlen. Der Natriumgehalt des Salzes schwankte zwischen den beiden Formeln:

$$C_6H_3\begin{cases}OH\\COCH_3\\ONa\end{cases} \text{ und } C_6H_3\begin{cases}ONa\\COCH_3\\ONa\end{cases}.$$

Auch die Acetylverbindung:

$$C_6H_3\begin{cases}OH\\COCH_3\\OCOCH_3\end{cases}$$

mit alkoholischem Natron übergossen, giebt unter Erwärmen dasselbe Salz, gleichzeitig wird der erfrischende Geruch des Essigäthers bemerkbar. Charakteristisch ist die weinrothe Färbung, welche eine Spur des Dioxyacetophenons in Wasser gelöst mit Eisenchlorid giebt.

In der Absicht, eine Dioxybenzoësäure zu erhalten, haben wir das Dioxyacetophenon mit chromsaurem Kalium und Schwefelsäure oxydirt. Wir erhielten aber ausser geringen Mengen unveränderter Substanz nur noch Essigsäure. Mit dem dreifachen Gewichte Salpetersäure, spec. Gewicht 1.4, übergossen, wird das Dioxyacetophenon in ein Mononitroproduct verwandelt. Die Reaction erfolgt ohne vorhergehendes Erwärmen. Nach beendigter heftiger Einwirkung wurde mit Wasser verdünnt, das krystallinisch abgeschiedene Nitroproduct abfiltrirt und aus 50proc. Alkohol umkrystallisirt, wobei sich die Substanz in schönen, langen, schwach gelb gefärbten Nadeln ausscheidet. Sie krystallisirt wasserfrei und schmilzt bei 142°. Die Elementaranalyse ergab folgende Zahlen:

0.2701 g der Substanz gaben 0.4791 g $CO_2$ und 0.0986 g $H_2O$ oder 48.37 Proc. C und 4.05 Proc. H. 0.2999 g gaben 19 ccm N-Gas bei 16.5° F., 720 mm Baromst. und über 20 Proc. Kalilauge, gefunden 6.99 Proc. N.

Die Verbindung $C_6H_2(NO_2)(OH)_2(C_2H_3O) = C_8H_7NO_5$ enthält C 48.73 Proc., H 3.55 Proc. und 7.11 Proc. N.

Die Nitrirung ist eine sehr glatte, und es scheint nur das Mononitroproduct zu entstehen. Die Elementaranalyse eines nur aus Wasser umkrystallisirten Productes ergab von der Theorie nur wenig abweichende Zahlen (gef. C 47.74 Proc., H 4.16 Proc. und 7.59 Proc. N).

Aehnlich wie mit Essigsäure giebt Resorcin auch mit Buttersäure und Chlorzink erwärmt ein neues Product, das aber flüssig ist. Wird zu einer Lösung von Chlorzink in Ameisensäure Resorcin zugesetzt, so löst sich auch dieses zunächst darin auf. Auf dem Wasserbade erwärmt, nimmt die Flüssigkeit eine schön rothe Färbung an, und nach einiger Zeit erstarrt sie zu einer festen Masse. Wasserzusatz scheidet daraus ein rothes amorphes Pulver, das sich in Alkalien mit violetter Farbe löst und durch Säuren wieder gefällt wird. Andererseits verhält sich Pyrogallol, mit Chlorzink und Eisessig einen Augenblick zum Sieden erhitzt, genau so wie das Resorcin. Das durch Wasserzusatz abgeschiedene Product ist in heissem Wasser leicht, in kaltem weniger löslich, und wird durch Umkrystallisiren daraus, unter Zusatz von Thierkohle, leicht rein, in weissen, perlmutterglänzenden Blättchen erhalten. Die Elementaranalyse dieser Substanz, welche bei 168° schmilzt, ergab zwar mit der Formel eines Trioxyacetophenons übereinstimmende Zahlen (gef. C 57.21 Proc., H 4.72 Proc.; die Verbindung $C_6H_2(C_2H_3O)(OH)_3$ enthält: C 57.14 Proc. und 4.76 Proc. H). Da aber die procentische Zusammensetzung aller möglichen Acetylderivate des Pyrogallols die gleiche wie die des Pyrogallols selbst ist, so müssen erst weitere Untersuchungen zeigen, ob die von uns erhaltene Substanz das nach der Analogie mit Resorcin erwartete Trioxyacetophenon ist. Jedenfalls ist

sie von dem bekannten Triacetyläther des Pyrogallols $C_6H_3O_3(C_2H_3O)_3$ verschieden.

Wie man sieht, lassen sich durch abwechselnde Anwendung einbasischer Fettsäuren und Phenole mittelst Chlorzink eine ganze Reihe aromatischer Oxyketone bereiten. Wir sind mit der weiteren Bearbeitung der in dieser Reaction entstehenden Substanzen beschäftigt.

Die Leichtigkeit, mit welcher sich die Radicale der einbasischen Fettsäuren mittelst Chlorzink in den Benzolkern der Phenole einfügen lassen, veranlasste uns, auch das Verhalten der zweibasischen Fettsäuren, zunächst gegen Resorcin, zu prüfen. Ueber die Condensationsproducte aus Oxalsäure und Resorcin mittelst Schwefelsäure liegen Angaben von Claus und Andreae[1]) sowie Gukassiantz[2]) vor. Bouchardat und Girard[3]) beschreiben in einem Patente, dass durch Einwirkung zweiatomiger Säuren, wie Oxalsäure, Milchsäure, Camphersäure u. s. w., auf Phenole und Diphenole bei 120 bis 250° Producte entstehen, welche unter der weiteren Einwirkung von unterchlorigsauren oder unterbromigsauren Alkalien Farbstoffe erzeugen, die aus der alkalischen Lösung durch Säuren abgeschieden werden können. In Bezug auf Bernsteinsäure hat schon vor längerer Zeit Malin[4]) die Beobachtung gemacht, dass Succinylchlorür mit Resorcin unter Salzsäureentwickelung ein gelbes Harz liefert, das in alkalischer Lösung durch den höchst intensiven grünen Dichroismus sich auszeichnete; Baeyer[5]), welcher den Versuch Malin's mit Bernsteinsäureanhydrid wiederholte, fand, dass in der That dabei eine, dem Fluoresceïn ausserordentlich ähnlich sehende Substanz sich bildet, so dass er nicht daran zweifelt, dass sie das Succineïn des Resorcins ist und vermuthlich nach folgender Gleichung entsteht: $C_4H_4O_3 + 2\,C_6H_6O_2 = C_{16}H_{12}O_5 + 2\,H_2O$.

Analysen, sowie genauere Untersuchung dieser fluorescirenden Substanz wurden jedoch von Baeyer nicht mitgetheilt.

Wir haben aus Bernsteinsäurehydrat und Resorcin durch Erhitzen sowohl mit Chlorzink als auch mit concentrirter Schwefelsäure das Succinylfluoresceïn krystallinisch erhalten und eingehender untersucht.

Die Darstellung dieses Körpers mittelst concentrirter Schwefelsäure ist in Bezug auf die Ausbeute vortheilhafter, weil weniger harzige Producte als bei Anwendung von Chlorzink entstehen. 20 g Resorcin, 13 g Bernsteinsäure und 40 g concentrirte Schwefelsäure werden im offenen Kolben auf 190 bis 195° etwa 1 Stunde lang erhitzt. Bei grösseren Quantitäten muss das Erhitzen entsprechend länger fortgesetzt werden. Die erkaltete Schmelze wird nur so lange mit verdünnter (etwa 3 bis 5 Proc.) Salzsäure ausgekocht, als in einer Probe des Filtrates durch Bromwasser ein rother Niederschlag entsteht. Aus den ersten salzsauren Auszügen scheidet sich das Succineïn in braungelben Krystallen aus, die unter dem Mikroskope lebhaft an die Formen der gefärbten Harnsäure erinnern. Die späteren Auszüge geben beim

[1]) Ber. **10**, 1305.
[2]) Daselbst **11**, 1184.
[3]) Liebig's Jahresb. 1877, S. 1234.
[4]) Ann. Chem. Pharm. **138**, 79.
[5]) Ber. **4**, 662.

Erkalten keine Krystallisation mehr und werden zweckmässig mit Ammoniak genau neutralisirt. Das in Alkalien und verdünnter Salzsäure lösliche Fluoresceïn ist nämlich in Lösungen neutraler Salze so gut wie unlöslich, und scheidet sich beim Neutralisiren der sauren Lösung in gelben amorphen Flocken aus, welche aus heisser Salzsäure ebenfalls krystallinisch erhalten werden können. Die Ausbeute beträgt etwa 70 bis 80 Proc. der theoretischen Menge, denn stets bleibt ein in verdünnter Salzsäure unlöslicher amorpher Rückstand, der sich in Alkalien mit rothbrauner Farbe löst, beim Verdünnen der Lösung stark fluorescirt und allem Anscheine nach identisch ist mit dem von Annaheim[1]) durch Erhitzen von Resorcin mit rauchender Schwefelsäure erhaltenen Producte. Die abfiltrirten Krystalle werden zunächst mit Wasser, sodann mit Alkohol (worin sich das Succinylfluoresceïn nur wenig löst) gewaschen und schliesslich durch Umkrystallisiren aus verdünnter HCl unter Zusatz von Thierkohle rein erhalten. Die nur an der Luft getrockneten Krystalle haben die Zusammensetzung $C_{16}H_{12}O_5 + 3\,H_2O$, wie aus folgenden Elementaranalysen ersichtlich:

0.2823 g der an der Luft getrockneten Substanz gaben 0.5846 g $CO_2$ und 0.1412 g $H_2O$ oder 56.46 Proc. C und 5.55 Proc. H. 0.2965 g gaben 0.6148 g $CO_2$ und 0.1461 g $H_2O$ oder 56.8 Proc. C und 5.47 Proc. H. Die Verbindung $C_{16}H_{12}O_5 + 3\,H_2O$ enthält C 56.8 Proc. und 5.30 Proc. H.

Schon im Exsiccator verliert die Substanz ihr Krystallwasser und geht wahrscheinlich in das Fluoresceïnhydrat $C_2H_4 \lt \begin{matrix} CO-C_6H_3(OH)_2 \\ CO-C_6H_3(OH)_2 \end{matrix}$ über. Beim Liegen aber über Schwefelsäure ist der Verlust an Wasser geringer, als es die Formel des Fluoresceïnhydrates verlangt; denn Analysen von über $SO_4H_2$ bis zu constantem Gewichte getrockneter Substanz ergaben für die Formel $C_{16}H_{14}O_6$ zu niedrigen Kohlenstoffgehalt (gefunden C 62.05 Proc. und 5.0 Proc. H, ferner im gleichen Präparate C 62.05 Proc. und 5.2 Proc. H, berechnet für $C_{16}H_{14}O_6$ C 63.5 Proc. und 4.63 Proc. H). Versucht man dann die Substanz im Luftbade zu trocknen, so verliert sie fortdauernd an Gewicht, ohne bei 130°, selbst 150° constant zu werden. Dabei färbt sie sich stark braun. Die Analysen verschiedener, zwischen 110 bis 150° getrockneter Präparate ergaben zwischen den Formeln $C_{16}H_{14}O_6$ und $C_{16}H_{12}O_4$ liegende Zahlen. Auch für das an der Luft getrocknete und aus absolutem Alkohol umkrystallisirte Fluoresceïn wurden noch der Formel $C_{16}H_{12}O_5 + 2\,H_2O$ am nächsten liegende Zahlen erhalten. Dass jedoch das Fluoresceïn der Bernsteinsäure durchaus analog dem der Phtalsäure zusammengesetzt ist, geht aus den Analysen des Tetrabromproductes (des Succinyleosins) hervor. Denn ähnlich wie die Fluorescenz des Succinylfluoresceïns in alkalischer Lösung an Schönheit dem Phtalsäurefluoresceïn fast gleich ist, so liefert es auch mit Brom einen schönen rothen Farbstoff, der die grösste Aehnlichkeit mit dem Baeyer'schen Eosin hat.

Die Darstellung des Succinyleosins ist eine sehr einfache. Kalt in verdünnter Salzsäure gesättigte Lösung wird mit Bromwasser, oder auch direct mit Brom, das man in dünnem Strahle zufliessen lässt, so lange versetzt, bis geringer Ueberschuss

[1]) Ber. **10**, 975.

vorhanden, d. h. durch weiteren Zusatz keine Abscheidung des in Wasser und verdünnten Säuren ganz unlöslichen Tetrabromsuccinylfluoresceïns mehr erfolgt. Das in rothen amorphen Flocken am Boden des Gefässes abgeschiedene Product wird zunächst mit Wasser, hierauf mit Alkohol oder besser mit Aether gewaschen (in Alkohol und namentlich in Aether ist Succinyleosin nur wenig löslich), sodann in verdünnter Natron- oder Kalilauge gelöst, filtrirt und mit HCl gefällt. Ist die Substanz rein, so scheidet sie sich in sehr kleinen rothen Nädelchen aus. Die Elementaranalysen eines so erhaltenen und über $SO_4H_2$ getrockneten Präparates ergaben folgende Zahlen:

0.3938 g der Substanz gaben 0.4637 g $CO_2$ und 0.0565 g $H_2O$ oder 32.11 Proc. C und 1.59 Proc. H.

0.3106 g Substanz gaben 0.3893 g Ag Br, entsprechend 53.31 Proc. Br. Das Tetrabromsuccinylfluoresceïn $C_2H_4<\begin{matrix}CO-C_6HBr_2<\begin{matrix}OH\\O\end{matrix}\\CO-C_6HBr_2<OH\end{matrix} = C_{16}H_8Br_4O_6$ enthält: C 32.0 Proc., H 1.33 Proc. und 53.33 Proc. Br.

Das Succinyleosin ist eine zweibasische Säure, doch sind es vorzugsweise die sauren Salze, welche sich durch ihre Krystallisationsfähigkeit auszeichnen. Die sauren Alkalisalze werden erhalten durch Auflösen des Farbstoffes in verdünntem Alkali und Zusatz von überschüssiger Essigsäure zu der siedend heissen Lösung. Beim Einkochen der Lösung scheiden sie sich in glänzenden braunrothen Krystallen aus, welche sämmtlich in Alkohol und Wasser schwer, und verhältnissmässig am leichtesten noch in Lösungen essigsaurer Alkalien löslich sind. Verdünnte Mineralsäuren scheiden die freie Säure wieder aus.

Das auf obige Weise erhaltene Kalisalz $C_{16}H_7Br_4O_5K$ krystallisirt wasserfrei in braunrothen, glänzenden, rhombischen Nadeln. Die Elementaranalyse des an der Luft getrockneten Salzes ergab folgende Zahlen:

0.3196 g der Substanz gaben 0.3534 g $CO_2$ und 0.0400 g $H_2O$ oder 30.16 Proc. C und 1.38 Proc. H. 0.2278 g gaben 0.2676 g Ag Br oder 49.98 Proc. Br. 0.3202 g gaben 0.0412 g $SO_4K_2$ oder 5.78 Proc. K. Die Verbindung $C_{16}H_7Br_4O_6K$ enthält 30.0 Proc. C, 1.09 Proc. H, 50.14 Proc. Br und 6.13 Proc. K.

Das auf gleiche Weise erhaltene saure Natrium- und Ammoniumsalz sind dem Kaliumsalze sehr ähnlich. Das erstere ist verhältnissmässig noch am leichtesten in heissem Wasser löslich. Das saure Calcium- und Baryumsalz entstehen durch Zusatz von Chlorcalcium resp. Chlorbaryum zu der Lösung des sauren Natriumsalzes. Es sind in Wasser unlösliche, rothe, krystallinische Niederschläge. Die Salze der schweren Metalle sind ebenfalls in Wasser unlöslich und amorph.

In Bezug auf die Färbekraft ist das Succinyleosin dem Phtaleosin gleich. Die Nüance ist nur ein wenig dunkler und auf Seide nicht so stark fluorescirend, als das Eosin von Baeyer.

Succinylfluoresceïn, mit Salpetersäure von 1.4 specif. Gew. zum Sieden erhitzt, wird in ein schwach gelb gefärbtes, schön krystallisirendes Nitroproduct verwandelt, das aber kein Farbstoff ist und nicht mehr fluorescirt. Wir haben es nicht weiter untersucht. Wie schon oben erwähnt, geben ausser Oxalsäure und Bernsteinsäure

nach den Angaben von Bouchardat und Girard auch andere zweiatomige Fettsäuren mit Resorcin fluorescirende Producte. Wir können noch hinzufügen, dass auch die halogensubstituirten einbasischen Fettsäuren, wie z. B. Chlor- oder Bromessigsäure, mit Resorcin und concentrirter $SO_4H_2$ ein Fluoresceïn giebt, welches, in salzsaurer Lösung mit Brom behandelt, in einen rothen Farbstoff verwandelt wird. Allem Anschein nach verhalten sich diese Säuren ähnlich wie die zweiatomigen, d. h. es verbindet sich unter Austritt von HCl und $H_2O$ ein Molekül der Chloressigsäure mit 2 Molekülen Resorcin.

Bern, im December 1880.

---

## Zur Kenntniss des Mykoproteïns

von

**F. Schaffer.**

Journ. prakt. Chem. 23, 302.

In einer früheren Publication über die chemische Zusammensetzung der Fäulnissbacterien wurde von Prof. Nencki und mir das Mykoproteïn als ein eigenthümliches Acidalbumin beschrieben, welches aus der Hefe und namentlich aus den Bacterien leicht in grösseren Mengen dargestellt werden kann. Es war nun von Interesse, die Spaltungsproducte dieser den Fermentorganismen eigenthümlichen Substanz kennen zu lernen.

9 g trockenes Mykoproteïn aus Fäulnissbacterien, entsprechend 8.7 g aschefreier Substanz, wurden mit dem fünffachen Gewichte Aetzkali in einer Silberschale unter stetem Umrühren erhitzt. Die Schmelze wurde dunkelbraun, schäumte stark und entwickelte viel Ammoniak und Amylamin. Nachdem das Schäumen und die Ammoniakentwickelung nachgelassen und die Schmelze eine hellere, gelbliche Nüance annahm, wurde das Erhitzen unterbrochen. Die erkaltete Masse, in Wasser gelöst, wurde in eine mit Kühlrohr verbundene tubulirte Retorte filtrirt, mit verdünnter Schwefelsäure, die man langsam durch einen am Tubulus angebrachten Scheidetrichter zufliessen liess, übersättigt und destillirt. Das saure Destillat hatte neben einem eigenthümlich widrigen, an Skatol erinnernden Geruch auch deutlich denjenigen nach Blausäure und höheren Nitrilen. Mit den Wasserdämpfen gingen braune Oeltropfen über, die beim Stehen krystallinisch erstarrten, die aber der geringen Menge wegen nicht untersucht werden konnten. Die Destillation wurde so lange fortgesetzt, bis das Destillat nicht mehr sauer reagirte. Es wurde nun zunächst mit Normalnatronlauge der Säuregrad des Gesammtdestillates bestimmt, sodann die ganze Flüssigkeit mit Natron neutralisirt und mit Aether ausgeschüttelt. Der abgewogene ätherische Auszug hinterliess nach Abdestilliren des Aethers einen geringen öligen Rückstand, der, mit Wasser versetzt und destillirt, minimale Mengen Indol und Skatol lieferte. Die Anwesenheit dieser Substanzen wurde, abgesehen von dem charakteristischen Geruch, noch durch die Reactionen mit rauchender

Salpetersäure und Pikrinsäure constatirt. Der Retortenrückstand, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und destillirt, gab jetzt ein Destillat, aus welchem durch Bromwasser das Phenol als Tribromphenol ausgeschieden wurde. Die Menge des erhaltenen Tribromphenols betrug 0.0454 g, entsprechend 0.0129 g Phenol oder 0.15 Proc. von dem Gewichte des angewandten Mykoproteïns.

Das ursprüngliche, mit Aether ausgeschüttelte Destillat, welches die flüchtigen Fettsäuren als Natronsalze enthielt, wurde auf dem Wasserbade bis zum Syrup eingedampft, filtrirt, mit verdünnter $SO_4H_2$ übersättigt und wiederum destillirt. Da die Menge der übergegangenen Fettsäuren für ihre Trennung zu gering war, so wurde das Destillat mit Ammoniak neutralisirt und mit salpetersaurem Silber gefällt. Eine Silberbestimmung des getrockneten Niederschlages ergab 50.29 Proc. Ag Valeriansaures Silber, welchem Salze diese Zahl am nächsten steht, verlangt 51.6 Proc. Ag. Wollte man den Säuregrad des Gesammtdestillates auf Valeriansäure beziehen, so würde dies 38 Proc. von dem Gewichte des angewandten Mykoproteïns entsprechen.

Der von der Destillation der Kalischmelze mit verdünnter Schwefelsäure hinterbliebene Retortenrückstand wurde mit kohlensaurem Baryt neutralisirt, filtrirt und eingedampft. Nach wiederholter Filtration des ausgeschiedenen schwefelsauren Kaliums wurde schliesslich ein Syrup erhalten, aus welchem in kurzer Zeit Leucin auskrystallisirte. Die Mutterlauge davon zeigte, noch mehr eingeengt, ausser den Leucinkugeln noch eine zweite, in concentrischen Blättchen krystallisirende Substanz, die jedoch aus den syrupösen Laugen nicht zu isoliren war.

Hierdurch ist das Mykoproteïn als zu der Gruppe der echten Eiweissstoffe gehörig charakterisirt. Namentlich ist der Nachweis des Phenols, welches durch weitere Zersetzung des Tyrosins durch schmelzendes Kali entsteht, hierfür beweisend. Unter den Acidalbuminen, denen es noch am nächsten verwandt ist, ist es vielleicht in den Lösungen neutraler Salze das schwerlöslichste. — Nach meinen Bestimmungen trübt sich eine 1 proc. wässerige Mykoproteïnlösung schon bei einem Gehalte von 1 Proc. Kochsalz und bei dem Gehalte von 2 Proc. NaCl ist die Ausscheidung dieser Eiweissmaterie eine fast vollständige.

Spätere Untersuchungen müssen ferner die Frage entscheiden, ob das Mykoproteïn als solches in der Hefe und den Spaltpilzen enthalten ist, oder, was wahrscheinlicher, ähnlich wie das Syntonin, aus dem Myosin erst durch die Einwirkung der Säure auf einen in diesen Organismen enthaltenen genuinen Eiweisskörper entstanden ist.

Prof. Nencki's Laboratorium in Bern.

# Beiträge zur Kenntniss der chemischen Zusammensetzung der Schimmelpilze

von

**N. Sieber.**

Journ. prakt. Chem. 23, 412.

Die zahlreichen Untersuchungen über die Schimmelpilze der letzten Jahre sind vorwiegend morphologischen Inhalts. In biologischer Hinsicht ist hauptsächlich die Thatsache, dass die Schimmelpilze nur an der Luft vegetiren können und bei Luftausschluss verkümmern, dass sie folglich des Sauerstoffs zu ihrem Leben bedürfen. vielfach experimentell bewiesen worden. Während die Hefe und verschiedene Formen der Spaltpilze bei völliger Abwesenheit des Sauerstoffs leben und sich vermehren können, und gerade deshalb fermentative Processe hervorrufen, vermögen dies die Schimmelpilze nur in sehr beschränktem Grade, und gehen nach einiger Zeit bei Sauerstoffausschluss zu Grunde.

Bei Anwesenheit von Sauerstoff entwickeln sich z. B. die Sporen von Mucor-Mucedo in einer zuckerhaltigen Nährlösung zu einem üppigen Mycelium, und es tritt vorerst keine Gährung ein, sondern der Pilz verbrennt gleichzeitig mit seiner Entwickelung die organische Substanz zu Wasser und Kohlensäure (und vielleicht noch anderen, weniger hoch oxydirten Producten). Bei Abwesenheit von Sauerstoff dagegen entwickeln sich die Mucor-Sporen direct zu Mucor-Hefezellen, die sich durch Sprossung vermehren. Es findet die Bildung von Alkohol aus Zucker statt, die jedoch sehr schwach ist, so dass die Nährflüssigkeit nur wenige Procente Alkohol (etwa 3 Proc.) enthält, und nach längerem Verweilen sterben die in der Nährlösung untergetauchten Zellen ab [1]). Genau so verhält es sich nach den Untersuchungen von Fitz [2]), Brefeld [3]) und Pasteur [4]) mit dem Mucor racemosus.

Schon früher fand übrigens van Tieghem [5]), dass Penicillium und Aspergillus niger gegen Gerbsäure sich ähnlich wie die Mucor gegen Zuckerlösungen verhalten. Bei reichlichem Sauerstoffzutritt verbrennen die erstgenannten Pilze die Gerbsäure vollständig, und zugleich wird ihre eigene Masse beträchtlich vermehrt, bei Abwesenheit von Sauerstoff wird die Gerbsäure in Gallussäure und Glucose gespalten und die Vermehrung der Pilzmasse ist nur eine geringe. Man kann mit Recht den Gährung bewirkenden Spross- und Spaltpilzen die Schimmelpilze als diejenigen gegenüber stellen, die des Sauerstoffs nothwendig bedürfen, mit welchem sie die organischen Bestandtheile der Nährlösungen verbrennen. Ob die Oxydation der organischen Substanzen durch die Schimmelpilze eine vollständige ist, das heisst:

---

[1]) Albert Fitz, Ber. **6**, 53.
[2]) Fitz, daselbst **9**, 1352.
[3]) Untersuchungen über Alkoholgährung **2**, Würzb. phys.-med. Gesellsch. 1874.
[4]) Etudes sur la bière, p. 133 et 134.
[5]) Compt. rend. 1867, **65**, 1091—1094.

ob nur die Endproducte derselben: Kohlensäure, Wasser, salpetrige und Salpetersäure, dabei auftreten, oder ob noch unvollständige Oxydationsproducte und in welchen Mengen dabei gebildet werden, das ist bis jetzt für die wenigsten Nährlösungen untersucht worden. Zweifellos aber müssen dabei auch synthetische Processe und Bildung complexer organischer Materie stattfinden, schon deshalb, weil gerade bei reichlicher Sauerstoffzufuhr die üppigste Vegetation der Schimmelpilze, und somit der Aufbau ihrer eigenen Leibessubstanz geschieht.

Analysen der die Alkoholgährung bewirkenden Hefezellen sind in zahlreicher Menge vorhanden. Auch die chemische Zusammensetzung der Fäulnissbacterien haben kürzlich Nencki und Schaffer[1]) untersucht.

Nur über die Zusammensetzung der Schimmelpilze, wenn wir von hier und da zerstreuten und wenig übereinstimmenden Angaben absehen, ist bis jetzt noch keine systematische chemische Untersuchung ausgeführt worden.

Die nahe Verwandtschaft der Schimmelpilze zu den Spross- und Spaltpilzen einerseits, und andererseits ihre so gänzlich verschiedenen biologischen Verhältnisse machen es wünschenswerth, die chemische Zusammensetzung der Schimmelpilze eingehender zu untersuchen. Der Umstand, dass dies bis jetzt noch nicht geschehen ist, veranlasste mich, eine Reihe von Vorprüfungen zur Orientirung und Auffindung von Untersuchungsmethoden anzustellen. Hierin liegt auch der Grund, dass mein Vorhaben durchaus noch nicht mit der gewünschten Vollständigkeit erreicht werden konnte. Die bis jetzt erhaltenen Resultate geben nur Anhaltspunkte für die weiteren Untersuchungen, die ich, sobald es meine Zeit gestattet, wieder aufnehmen werde.

Die Hauptbedingung war zunächst Beschaffung eines reinen, von anderen Organismen, namentlich von Spaltpilzen, freien Materials.

Aehnlich wie Nägeli und Loew[2]) in ihrer Arbeit über die Fettbildung bei den Pilzen, habe ich zur Verhinderung der Spaltpilzentwickelung der Nährlösung Phosphorsäure zugesetzt. Um zu sehen, welchen Einfluss die Verschiedenheit der organischen Bestandtheile der Nährlösung auf die chemische Zusammensetzung des Schimmels ausübt, wurden zwei verschiedene Nährlösungen — die eine aus Zucker und Gelatine, die andere aus Zucker und Salmiak bestehend — aufgestellt. Ihre Zusammensetzung war in 1000 Theilen folgende:

| | I. | II. |
|---|---|---|
| Wasser | 954.895 | 928.895 |
| Zucker | 20.0 | 48.0 |
| Gelatine | 10 | — |
| Salmiak | — | 8 |
| Freie Phosphorsäure ($P_2O_5$) | 10 | 10 |
| Schwefelsäure ($SO_3$) | 0.25 | 0.25 |
| Chlor (Cl) | 0.075 | 0.075 |
| Kali ($K_2O$) | 4.5 | 4.5 |
| Natron ($Na_2O$) | 0.06 | 0.06 |
| Kalk (CaO) | 0.2 | 0.2 |
| Magnesia (MgO) | 0.02 | 0.02 |

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **20**, 443. — Dieser Band S. 477.

[2]) Journ. prakt. Chem. [2] **21**, 97.

Um eine möglichst grosse Oberfläche der Luft auszusetzen, befanden sich die Nährlösungen in breiten, flachen Schalen, welche lose mit Glasplatten zugedeckt waren. In diese Nährlösungen wurden Sporen und Fäden von Penicillium und Aspergillus glaucus ausgesäet. In 4 bis 5 Tagen bildete der Schimmel in beiden Nährlösungen isolirte Inseln, welche sich rasch vergrösserten und schon nach 10 Tagen eine gleichmässige, anfangs dünne, später immer dickere (bis zu 3 mm) Haut auf der Oberfläche bildeten. Diese Mycoderma-Schicht wurde von Zeit zu Zeit durchgebrochen und in die Flüssigkeit untergetaucht, worauf sich regelmässig neue Vegetationen an der Oberfläche einstellten. Die von Zeit zu Zeit vorgenommene mikroskopische Untersuchung ergab, dass in der Nährlösung aus Salmiak und Zucker vorwiegend Aspergillus glaucus sich entwickelt hat. In der Nährlösung aus Gelatine und Zucker waren ausserdem Penicillium und Mucor Mucedo vorhanden. Die Ernte aus den beiden Nährlösungen war verschieden. Während ich nach $2^1/_2$ monatlichem Stehen bei Zimmertemperatur für je einen Liter der aus Salmiak und Zucker bestehenden Nährlösung, durchschnittlich 31 g Pilzmasse mit 5.4 g trockener Substanz erhielt, war die Ernte für je 1 Liter der Gelatine und Zuckerlösung nach 3 monatlichem Stehen nur 8 g Pilzmasse mit 1.4 g trockener Substanz.

Die chemische Analyse, welche natürlich nicht getrennt an den Mycelien und Sporen ausgeführt werden konnte, geschah auf folgende Weise:

Die abgehobene Haut wurde in einem Porcellan-Mörser zerrieben, sodann auf dem Filter zur Entfernung der Nährlösung so lange mit Wasser gewaschen, bis das ablaufende Filtrat nicht mehr sauer reagirte. Man liess nun die Pilzmasse einige Stunden auf dem Fliesspapier liegen, bis das mechanisch anhängende Wasser aufgesogen wurde, sodann wurde die Substanz behufs der Wasserbestimmung in trockene, gewogene Porcellantiegel gebracht. Das Trocknen geschah im Luftbade bei 110 bis 115° bis zum constanten Gewicht.

Die entwässerten Schimmelpilze wurden in einem Achatmörser fein gepulvert, sodann eine abgewogene Menge derselben in dem Extractionsapparat [1]) auf getrocknete gewogene Faltenfilter gebracht. Die trockene Substanz wurde zuerst mit Aether, nachher mit Alkoholdampf so lange behandelt, bis beide von der Pilzsubstanz nichts mehr aufnahmen. Der ätherische Auszug enthält nicht nur Fett, sondern auch Farbstoff und in geringer Menge eine krystallinische Substanz, die aber hauptsächlich von Alkohol aufgenommen wird. Von dieser in der Kälte aus dem Aetherauszuge auskrystallisirten Substanz wurde der ätherische Auszug in ein gewogenes Kölbchen abfiltrirt, der Aether abdestillirt, und der Rückstand zunächst auf dem Wasserbade, hierauf im Exsiccator über Schwefelsäure bis zum constanten Gewichte getrocknet.

Aus den alkoholischen Extracten schied sich beim Erkalten in grösserer Menge

[1]) Zu diesen Extractionen benutzte ich den gleichen Apparat, wie ihn Nencki und Schaffer zu der Entfettung der Fäulnissbacterien angewendet und in ihrer Abhandlung (Journ. prakt. Chem. 1879, **20**, 450. — Dieser Band S. 482) abgebildet haben. Eine vortheilhafte Abänderung des Apparates bestand nur darin, dass der Vorstoss nicht mit dem Trichterrohr mittelst eines durchbohrten Korkes verbunden, sondern direct auf das Trichterrohr aufgeschliffen war.

die gleiche krystallinische Substanz aus, welche auch vom Aether gelöst wurde. Der Alkoholextract wurde davon filtrirt und auf dem Wasserbade verdunstet. Bei den aus Gelatine und Zucker erhaltenen Schimmelpilzen bestand der alkoholische Rückstand vorwiegend aus der krystallinischen Substanz, mit nur wenig harzigen klebrigen Materien vermengt. Umgekehrt enthielt der alkoholische Auszug des Schimmels aus Zucker und Salmiak fast nur harzige Substanzen.

Da ich die Natur der in Alkohol löslichen Substanzen kennen lernen wollte, so wurde der alkoholische Auszug nicht direct gewogen, sondern dessen Gewicht aus dem Verlust nach der Extraction mit Alkohol und Aether und nach Abzug des ätherischen Auszuges berechnet.

Der mit Aether und Alkohol extrahirte Rückstand wurde wiederum bei 100° getrocknet, gewogen und für Asche- und Elementaranalysen verwendet. Die erhaltenen Zahlen sind folgende:

### A. Schimmelpilze aus Zucker und Gelatine.

Wasserbestimmung. 1. 21.4414 g frischer Pilze verloren, bis zu constantem Gewichte getrocknet, 18.0812 g oder 84.328 Proc. Wasser.

2. 30.7257 g verloren nach dem Trocknen 26.1473 g oder 85.09 Proc. Wasser.

Alkohol- und Aetherextractbestimmungen. 12.7808 g der trockenen Pilzmasse wogen nach der Extraction mit Alkohol und Aether 9.5117 g. Das Gewicht der in Alkohol und Aether löslichen Stoffe war also 3.2691 g oder 25.57 Proc. Davon waren nur in Aether gelöst 2.394 g oder 18.7 Proc.

### Elementare Zusammensetzung der mit Alkohol und Aether extrahirten Pilze.

Aschebestimmung. 1. 0.4171 g trockener Substanz, im Platintiegel geglüht, hinterliessen 0.0269 g oder 6.44 Proc. Asche.

2. 0.2536 g Substanz gaben 0.0242 g oder 6.7 Proc. Asche. Die Asche bestand vorwiegend aus phosphorsaurem Kali, Kalk und Magnesia. Sie enthielt ferner Spuren von Eisen und keine Schwefelsäure.

Stickstoffbestimmung. 1. 0.262 g der aschehaltigen Substanz = 0.246 g aschefreier Substanz, mit CuO verbrannt, gaben 15.3 ccm N-Gas bei 708 mm Barometerstand und 11.6°, oder 6.46 Proc. N = 6.88 Proc. aschefrei.

2. 0.2148 g = 0.2135 g aschefreie Substanz gaben 13.4 ccm N-Gas bei 708 mm Barometerstand und 15°, oder 6.7 Proc. N = 6.79 Proc. aschefrei.

C- und H-Bestimmungen. 1. 0.2141 g = 0.2007 g aschefreier Substanz, mit CuO verbrannt, gaben 0.1293 g $H_2O$ und 0.3456 g $CO_2$, also 44.0 Proc. C und 6.71 Proc. H, oder 47.01 Proc. C und 7.13 Proc. H aschefrei berechnet.

2. 0.3167 g = 0.2964 g aschefreier Substanz gaben 0.1861 g $H_2O$ und 0.5149 g $CO_2$ = 44.33 Proc. C und 6.49 Proc. H, oder 47.36 Proc. C. und 6.95 Proc. H aschefrei.

## B. Schimmelpilze aus Salmiak und Zucker.

Wasserbestimmungen. 1. 46.9997 g Substanz verloren nach dem Trocknen bis zum constanten Gewichte 40.321 g oder 85.79 Proc. Wasser.

2. 25.1518 g Substanz verloren 21.5525 g oder 85.69 Proc. Wasser.

Alkohol- und Aetherextractbestimmungen. 8.1403 g der trockenen Schimmelmasse verloren, mit Aether und Alkohol extrahirt, 1.187 g = 14.57 Proc. Davon waren nur in Aether gelöst 0.9118 g oder 11.19 Proc.

### Elementare Zusammensetzung der mit Alkohol und Aether extrahirten Pilze.

Aschebestimmung. 1. 0.4628 g der extrahirten Schimmelpilze hinterliessen, im Platintiegel geglüht, 0.0041 oder 0.88 Proc. Asche.

2. 0.2568 g gaben 0.0022 g oder 8.57 Proc. Asche.

Stickstoffbestimmungen. 1. 0.3785 g der aschehaltigen Substanz = 0.3753 g aschefreie Substanz gaben 18.6 ccm N-Gas bei 20° und 712 mm Barometerstand, oder 5.32 Proc. N = 5.374 Proc. aschefrei.

2. 0.326 g = 0.3133 g aschefreier Substanz gaben 16.2 ccm N-Gas bei 21° und 711 mm Barometerstand, oder 5.34 Proc. N = 5.58 Proc. Stickstoff[1]) aschefrei.

C- und H-Bestimmungen. 1. 0.3365 g = 0.3338 g aschefreier Substanz gaben, mit CuO und vorgelegtem metallischem Kupfer verbrannt, 0.5675 g $CO_2$ und 0.2096 g $H_2O$, oder 45.97 Proc. C und 6.89 Proc. H, oder 46.36 Proc. C und 6.97 Proc. H aschefrei berechnet.

2. 0.2546 g = 0.2524 g aschefreier Substanz gaben 0.430 g $CO_2$ und 0.1584 g $H_2O$, oder 46.03 Proc. C und 6.90 Proc. H, oder aschefrei 46.43 Proc. C und 6.97 Proc. H.

Die mit Alkohol und Aether extrahirte Pilzsubstanz besteht wesentlich aus Eiweiss und Cellulose. Mit verdünnter Schwefelsäure gekocht, löste sie sich zum grössten Theil darin auf, und das Filtrat, mit NaHO übersättigt und mit Kupferoxydlösung versetzt, scheidet beim Erwärmen reichliche Mengen von Kupferoxydul ab. In der Voraussetzung, dass die Eiweisssubstanzen der Schimmelpilze, ähnlich wie die der Spaltpilze und der Hefe, hauptsächlich aus Mykoproteïn bestehen, habe ich 3 bis 4 g der trockenen, mit Alkohol und Aether extrahirten Substanz mit dem 50 fachen Gewicht 1 proc. Kalilauge auf dem Wasserbade etwa 12 Stunden lang digerirt. Hierauf wurde von dem Ungelösten filtrirt, das Filtrat mit Salzsäure angesäuert und mit concentrirter Kochsalzlösung versetzt. Es entstand eine sehr

[1]) Diese Stickstoffbestimmungen wurden in dem von König modificirten Zulkowsky'schen Apparate (Ber. 3) ausgeführt. Bei der Berechnung des Gasvolumens wurde daher von dem Barometerstande nicht die Spannkraft des Wasserdampfes, sondern die der 20 proc. Kalilauge in Abzug gebracht.

schwache Trübung, und erst nach mehrstündigem Stehen setzte sich am Boden ein flockiger Niederschlag ab, der, abfiltrirt, mit Millon'schem Reagens versetzt, sich roth färbte und nach dem Trocknen auf Platinblech verbrannt, den Geruch nach verbranntem Horn verbreitete. Ich habe diesen Versuch mit gleichem Resultat in grösserem Maassstabe wiederholt: 500 g frische, in phosphorsäurehaltiger Nährlösung gezüchtete Schimmelpilze wurden zunächst durch Waschen mit Wasser von der Säure befreit, und dann mit 4 fachem Gewichte 1 proc. Kalilauge auf dem Wasserbade digerirt. Die alkalische Lösung, mit Salzsäure versetzt, gab einen flockigen Niederschlag, der sich aber weder in Wasser, noch in verdünnter Säure löste und kein Acidalbumin, sondern ein Umwandlungsproduct der Schimmelcellulose war. Es geht hieraus hervor, dass das Mykoproteïn für die Fermentorganismen, wie Hefe und Spaltpilze, eine charakteristische und ihnen eigenthümliche Eiweisssubstanz ist. Die Schimmelpilze, welche nur unter für ihr Leben ungünstigen Verhältnissen — bei ungenügender Sauerstoffzufuhr — Fermentationen bewirken, enthalten diesen Eiweisskörper nicht. Es bedarf daher weiterer Untersuchungen, um die Natur der in Schimmel enthaltenen Eiweisssubstanzen zu charakterisiren. Berücksichtigt man übrigens den Umstand, dass Schimmelpilze in Nährlösungen, welche 1 Proc. und mehr an freier Säure enthalten, vortrefflich gedeihen und andererseits die Leichtlöslichkeit des Mykoproteïns in verdünnten Säuren, so war es von vornherein zu erwarten, dass die Eiweisssubstanzen des Schimmels andere Eigenschaften als das Mykoproteïn haben müssen.

Ich habe ferner die Alkohol- und Aetherextracte der Schimmelpilze genau nach dem von Hoppe-Seyler[1]) angegebenen Verfahren auf den Gehalt an Lecithin untersucht. Es gelang mir auch, durch Kochen des Aetherextractes mit Aetzbarytlösung, sowohl die Bildung der Phosphorsäure nachzuweisen, als wie auch ein in Nadeln krystallisirendes Platinsalz darzustellen, das seiner Bildung nach wohl Cholinplatindoppelsalz sein könnte. Selbstverständlich ist damit nicht mit Sicherheit die Anwesenheit des Lecithins nachgewiesen; allein auf Grund dieser Reactionen ist das Vorkommen des Lecithins oder ihm ähnlicher Substanzen sehr wahrscheinlich.

Dagegen ist es mir nicht gelungen, die Natur und die Zusammensetzung der oben erwähnten, aus den ätherischen und alkoholischen Extracten auskrystallisirten Substanz zu ermitteln. Die in Aether und Alkohol nur wenig, in Wasser dagegen sehr leicht löslichen Krystalle konnten nur mit grossen Verlusten von der ihnen anhaftenden klebrigen Substanz befreit werden. Nach manchen Versuchen habe ich es noch am zweckmässigsten gefunden, die wässerige Lösung der Substanz mit Bleiessig zu fällen, wodurch nicht die Substanz, wohl aber die Verunreinigungen grösstentheils gefällt werden. Aus dem entbleiten und eingedampften Filtrate scheidet sich die Substanz in weissen Krystallnadeln aus, die zwischen Fliesspapier abgepresst, von der syrupösen Mutterlauge befreit und so rein erhalten wurden.

Die geringe Menge der so erhaltenen reinen Substanz machte aber jede weitere Untersuchung unmöglich. Unter der Annahme, dass die mit Aether und Alkohol

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **3**, 378.

extrahirten Schimmelpilze ausser Aschebestandtheilen nur noch aus Eiweiss und Cellulose bestehen und der Stickstoffgehalt des Eiweisses gleich 16 Proc. festgesetzt wird, ergiebt sich für 100 Theile trockener Schimmelpilze folgende Zusammensetzung:

Trockene Schimmelpilze aus Gelatine und Zucker.

| | |
|---|---|
| In Aether lösliche Materie | 18.70 |
| In Alkohol „ „ | 6.87 |
| Asche | 4.89 |
| Eiweiss | 29.88 |
| Cellulose | 39.66 |
| | 100.00 |

Trockene Schimmelpilze aus Salmiak und Zucker.

| | |
|---|---|
| In Aether lösliche Materie | 11.19 |
| In Alkohol „ „ | 3.36 |
| Asche | 0.73 |
| Eiweiss | 28.95 |
| Cellulose | 55.77 |
| | 100.00 |

Die auf Gelatine und Zucker gewachsenen Schimmelpilze haben demnach einen bedeutend höheren Gehalt an in Alkohol und Aether löslichen Materien und Asche. Der gefundene Eiweissgehalt ist in beiden Sorten ziemlich der gleiche. Sehr auffallend ist der geringe Aschegehalt in den aus Zucker und Salmiak erhaltenen Pilzen. Die Cellulose macht hier mehr als die Hälfte der trockenen Substanz aus.

Die Aufgabe der nächsten Untersuchung wird darin bestehen, die Natur und Zusammensetzung der Extractivstoffe, namentlich der in Alkohol löslichen krystallinischen Substanz, ferner des Eiweisses und der als Cellulose bezeichneten Substanz festzustellen.

Von Interesse wird es ferner sein, die Aenderung zu ermitteln, welche die Nährlösung durch die Pilzvegetation erlitten hat. Zur Zeit, da ich die Schimmelpilze aus der Nährlösung für die Untersuchung genommen habe, war in ihr kein Zucker mehr vorhanden.

Bern, Laboratorium des Prof. Nencki.

# Ueber die Verbindungen der ein- und zweibasischen Fettsäuren mit Phenolen

von

**M. Nencki** und **N. Sieber.**

## Zweite Mittheilung.

Journ. prakt. Chem. **23**, 537.

Die weitere Verfolgung der in der ersten Mittheilung[1]) zwischen Phenolen und einbasischen Fettsäuren beschriebenen Reaction hat zunächst ergeben, dass ähnlich wie Resorcin auch Hydrochinon, Orcin, Pyrogallol u. s. w. mit Chlorzink und Essigsäure auf 145 bis 150° erhitzt, Acetoxyphenone liefern, welche meistentheils in Wasser schwer lösliche, schön krystallisirende und beständige Verbindungen sind; sodann haben wir gefunden, dass die so entstandenen Acetoxyphenone durch weitere Wasserentziehung und darauf folgende Condensation in Farbstoffe übergehen, die durch ihre Bildung, Zusammensetzung und Verwandtschaft zu gewissen natürlichen Farbstoffen genug des Interessanten darbieten.

Bevor wir zur Beschreibung dieser Farbstoffe übergehen, wollen wir noch nachträglich unsere Angaben über das Acetoketon des Resorcins und des Pyrogallols vervollständigen; um zunächst eine gewisse Systematik in der Nomenclatur dieser Verbindungen einzuführen, wollen wir das bereits beschriebene, aus Resorcin und Essigsäure unter Austritt von einem Molekül Wasser entstandene Keton als Resacetophenon, das entsprechende Derivat des Hydrochinons als Chinacetophenon, das des Brenzcatechins als Catechinacetophenon und das des Pyrogallols als Gallacetophenon bezeichnen.

Wird Nitroresacetophenon mit Zinn und verdünnter Salzsäure so lange gekocht, bis alles gelöst worden, so ist das Nitroproduct in die entsprechende Amidoverbindung übergeführt worden. Die nach Entfernung des Zinns durch Schwefelwasserstoff filtrirte Lösung wurde auf dem Wasserbade bis zur beginnenden Krystallisation concentrirt, worauf nach dem Erkalten das salzsaure Salz in glänzenden weissen Prismen auskrystallisirte. Die Ausbeute ist nur gering, etwa 20 Proc. der berechneten, da nur die Krystallisation reines Product liefert, und das Amidoresacetophenon schon in saurer Lösung an der Luft sich rasch bräunt. Wir haben uns aus letzterem Grunde bloss auf die Analyse des salzsauren Salzes, das aus heissem Wasser umkrystallisirt worden, beschränkt.

Das Salz krystallisirt wasserfrei; die bloss im Exsiccator getrocknete Substanz ergab folgende Zahlen:

0.3422 g gaben 0.597 g $CO_2$ und 0.1512 g $H_2O$, oder 47.58 Proc. C und 4.91 Proc. H.

---

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **23**, 147. — Dieser Band S. 571.

0.3370 g gaben 22 ccm N-Gas bei 16° T. und 700 mm Bst., oder 6.98 Proc. N.
0.3876 g gaben 0.2754 g AgCl oder 17.56 Proc. Cl.

| Versuch. | | Das salzsaure Amidoresacetophenon $= C_6H_2(NH_2)(OH)_2(C_2H_3O)HCl$ $= C_8H_9NO_3HCl$ enthält: | |
|---|---|---|---|
| C | 47.58 Proc. | C | 47.17 Proc. |
| H | 4.91 „ | H | 4.93 „ |
| N | 6.98 „ | N | 6.88 „ |
| Cl | 17.56 „ | Cl | 17.44 „ |
| O | — „ | O | 23.58 „ |

Das Gallacetophenon, dessen Elementaranalysen und Schmelzpunkt bereits in der ersten Abhandlung mitgetheilt wurden, wird durch kurzes Erhitzen von 1 Thl. Pyrogallol mit 1.5 Thln. Chlorzink, das zuvor in 1.5 Thln. Eisessig gelöst worden, auf 145 bis 150° erhalten. Längeres Erhitzen ist zu vermeiden, da sehr bald weitere Einwirkung stattfindet, und aus dem Gallacetophenon ein in Alkalien mit violetter Farbe lösliches Product, welches später beschrieben werden soll, entsteht. Aus der noch heiss mit Wasser verdünnten Schmelze scheidet sich das Gallacetophenon krystallinisch aus und kann schon durch einmaliges Umkrystallisiren aus heissem Wasser rein erhalten werden.

In alkalischer Lösung färbt sich Gallacetophenon an der Luft anfangs gelb, bald aber wird die Färbung braun. Immerhin geschieht die Oxydation bedeutend langsamer, als bei der Pyrogallussäure, so dass wir die Alkaliverbindung des Gallacetophenons in reinem Zustande erhalten konnten. Zur Darstellung dieses Salzes wird eine nicht zu concentrirte alkoholische Pyrogallollösung mit überschüssiger alkoholischer Kalilösung vermischt, der sofort entstandene, aus weissen Nadeln bestehende Niederschlag rasch auf ein Filter gebracht, mit Alkohol ausgewaschen und zwischen Fliesspapier abgepresst. Im trockenen Zuztande ist dieses Salz auch an der Luft beständig. Ueber Schwefelsäure getrocknet, verliert es dann im Luftbade auch bei 120° nichts mehr an Gewicht. Trotzdem ergaben die Elementaranalysen des bei 120° getrockneten Präparates Zahlen, welche der Formel $C_8H_7O_4K + H_2O$, oder vielleicht richtiger $C_8H_8O_4 + KOH$ entsprechen.

0.3126 g der Substanz gaben 0.4897 g $CO_2$ und 0.1212 g $H_2O$, oder 42.73 Proc. C und 4.30 Proc. H.

0.315 g der Substanz gaben 0.1196 g $SO_4K_2$ oder 17.1 Proc. K.

0.2391 g der Substanz gaben 0.094 g $SO_4K_2$ oder 17.6 Proc. K.

| Versuch. | | Die Verbindung $C_8H_8O_4 + KOH$ enthält: | |
|---|---|---|---|
| C | 42.73 Proc. | C | 42.83 Proc. |
| H | 4.30 „ | H | 4.12 „ |
| K | 17.1 und 17.6 Proc. | K | 17.45 „ |

Bemerkenswerth ist es ferner, dass trotz des überschüssigen Alkalis ein Salz mit nur einem Aequivalentgewichte Kalium erhalten wurde.

Schon in unserer ersten Mittheilung haben wir bemerkt, dass, wenn Resorcin mit Eisessig und Chlorzink auf höher als 150° oder längere Zeit auf 150° erhitzt

wird, durch weitere Einwirkung des Chlorzinks auf Resacetophenon ein Farbstoff entsteht, wodurch auch das rohe, aus der Schmelze abgeschiedene Resacetophenon roth gefärbt und in Alkalien mit violetter Farbe sich löst, während die alkalischen Lösungen des reinen Resacetophenons farblos sind.

Wir haben ferner gesehen, dass dabei das relative Verhältniss von Essigsäure zu Chlorzink von wesentlichem Einflusse ist. Je mehr Chlorzink im Verhältniss zu Essigsäure angewendet wird, bei um so höherer Temperatur kommt die Schmelze ins Sieden, und um so geringer ist die Ausbeute an Resacetophenon, während die Menge des gebildeten Farbstoffes zunimmt. Dass die in Alkalien mit rother Farbe lösliche Substanz wirklich aus dem Keton entsteht, davon konnten wir uns leicht durch Erhitzen des reinen Resacetophenons mit Essigsäure und Chlorzink auf 170 bis 175° überzeugen. Die Schmelze färbt sich dunkelroth und Wasserzusatz scheidet den Farbstoff zunächst als ein Harz, das eingetrocknet grünen, metallischen Glanz annimmt, und aus welchem wir den reinen Farbstoff — das Resaceteïn — darstellen konnten, ab. Einfacher und in Bezug auf die Ausbeute vortheilhafter ist die directe Darstellung des Farbstoffes aus Resorcin, Eisessig und Chlorzink. Nach mehrfachen Versuchen haben wir folgende Verhältnisse als die ergiebigsten ermittelt. 1 Gewichtsthl. Resorcin wird in einem Kolben auf dem Sandbade mit 2 Gewichtsthln. Eisessig und 3 Gewichtsthln. Chlorzink am Rückflusskühler bei Anwendung von 30 bis 100 g Resorcin $1^1/_2$ bis $2^1/_2$ Stunden zum Sieden erhitzt, hierauf die erkaltete Schmelze unter Umrühren in viel Wasser gegossen. Nach Verlauf einiger Stunden hat sich am Boden des Gefässes ein grünlich metallisch glänzendes Harz abgeschieden. Die darüber stehende Flüssigkeit wird abgegossen, das Harz in warmem Alkohol gelöst und in viel Wasser, dem etwas Salzsäure zugesetzt worden, hineinfiltrirt. Ein Theil des Farbstoffes scheidet sich hierbei harzig ab, der grösste Theil aber bleibt gelöst. Man filtrirt von Neuem und neutralisirt das Filtrat so lange mit Ammoniak, bis die Flüssigkeit nur schwach sauer reagirt. Ist Ammoniak im Ueberschusse zugesetzt worden, so wird die Lösung durch Essigsäure neutralisirt. Durch die Neutralisation scheidet sich in reichlicher Menge ein gelbrother Niederschlag ab, der ein Gemenge zweier Farbstoffe ist. Dieser Niederschlag wird auf ein Filter gebracht, ausgewaschen und auf Fliesspapier getrocknet. Die Trennung der beiden Farbstoffe, wovon wir den einen wegen der schönen grünen Fluorescenz „Acetfluoresceïn“, den anderen, nicht fluorescirenden aber „Resaceteïn“ nennen wollen, gelingt leicht durch Alkohol, worin das in geringerer Menge entstehende Acetfluoresceïn viel leichter als das Resaceteïn löslich ist. Das Gemenge der beiden Farbstoffe wird daher so lange mit kochendem Alkohol extrahirt, bis eine Probe der vom Alkohol nicht gelösten Fraction in wässerigem Ammoniak mit rein rosarother Farbe sich löst und die stark verdünnte alkalische Lösung keine Fluorescenz mehr zeigt.

Resaceteïn. Zur weiteren Reinigung wird das in Alkohol schwer lösliche Resaceteïn in wässerigem Ammoniak in der Wärme gelöst und die filtrirte Lösung an der Luft offen stehen gelassen. In dem Maasse, als das Ammoniak verdunstet, scheiden sich glitzernde rothe Krystallnadeln ab. Nach zwei bis drei Tagen, wenn ihre Menge nicht mehr zunimmt, werden die abgeschiedenen Krystalle filtrirt, mit

Wasser ausgewaschen und getrocknet. Aus diesem Producte lässt sich entweder das freie Resaceteïn oder auch die salzsaure Verbindung desselben leicht rein darstellen. Eine charakteristische Eigenschaft dieser stickstofffreien Farbstoffe ist nämlich die, dass sie, ähnlich wie die Amidosäuren, von Alkalien und Säuren leicht gelöst werden und mit den letzteren ziemlich beständige, gut krystallisirende Salze bilden. Schon Baeyer[1]) erwähnt, dass das Phtalfluoresceïn in kaltem Wasser so gut wie unlöslich ist, durch Säurezusatz aber die Löslichkeit bedeutend erhöht wird. Das von uns beschriebene Succinylfluoresceïn konnten wir nur aus verdünnter Salzsäure krystallinisch gewinnen, und erst durch lange anhaltendes Waschen wurden die Krystalle chlorfrei. Endlich haben Dale und Schorlemmer[2]) gut krystallisirende und beständige Salze des Aurins mit Salzsäure und Schwefelsäure dargestellt und analysirt.

In verdünnter Salzsäure ist das Resaceteïn leicht mit gelber Farbe löslich, nicht aber in concentrirter, und wird daher durch Zusatz von mehr Säure zu der Lösung amorph oder in feinen gelben Nadeln abgeschieden. Auch in Essigsäure ist es leicht löslich. Durch Neutralisation der sauren Lösung mit Ammoniak oder Natronlauge wird es als ein rothes amorphes Pulver gefällt. Ein so abgeschiedenes, gut ausgewaschenes und bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknetes Präparat ergab bei der Elementaranalyse folgende Zahlen:

0.2535 g gaben 0.667 g $CO_2$ und 0.1103 g $H_2O$, oder 71.71 Proc. C und 4.83 Proc. H.

0.2537 g gaben 0.6674 g $CO_2$ und 0.1111 g $H_2O$, oder 71.41 Proc. C und 4.86 Proc. H.

Die einfachste, aus diesen Zahlen abgeleitete Formel ist $= C_4H_3O$, welche 71.64 Proc. C und 4.48 Proc. H verlangt.

Aus den Analysen des salz- und des schwefelsauren Salzes geht aber hervor, dass dem Resaceteïn die empirische Formel $C_{16}H_{12}O_4$ zukommt.

Das salzsaure Salz wird erhalten durch Auflösen der Substanz in warmer verdünnter Salzsäure. Hat man reines Resaceteïn angewendet, so bilden sich beim Erkalten der Lösung wohl ausgebildete, glänzende rothe Prismen, welche zwei Moleküle Krystallwasser enthalten, das vollständig erst bei 110° entweicht.

0.2864 g des nur an der Luft getrockneten Salzes gaben 0.5905 g $CO_2$ und 0.1363 g $H_2O$, oder 56.23 Proc. C und 5.28 Proc. H. Ferner 1.5286 g des gleichen Präparates im Luftbade bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknet, verloren 0.1654 g am Gewicht oder 10.82 Proc. Die Verbindung $C_{16}H_{12}O_4HCl + 2H_2O$ enthält C 56.38 Proc., H 4.99 Proc. und 10.57 Proc. Wasser.

Das bei 110° getrocknete Salz hat die Zusammensetzung $C_{16}H_{12}O_4HCl$, wie dies aus folgenden Analysen zweier, von verschiedener Darstellung herrührender Präparate hervorgeht.

1. 0.2186 g der bei 110° getrockneten Substanz gaben 0.5076 g $CO_2$ und 0.0953 g $H_2O$, oder 63.32 Proc. C und 4.84 Proc. H. 0.2004 g gaben 0.0901 g AgCl, entsprechend 11.11 Proc. Cl.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **183**, 6.

[2]) Ebenda **196**, 88.

2. 0.233 g gaben 0.5381 g $CO_2$ und 0.0980 g $H_2O$, oder 62.97 Proc. C und 4.6 Proc. H. 0.2324 g gaben 0.1041 g AgCl oder 11.08 Proc. Cl. Die Verbindung $C_{16}H_{12}O_4HCl$ enthält 63.05 Proc. C, 4.26 Proc. H und 11.6 Proc. Cl.

Der Chlorgehalt ist ein wenig zu niedrig gefunden worden. Allem Anscheine nach entweichen mit dem Krystallwasser auch Spuren von Salzsäure, da die Substanz erst nach langem Trocknen bei 110° constant wird. Wir haben das analysirte Salz gar nicht mit Wasser ausgewaschen, sondern bloss die Mutterlauge abgegossen und die Krystalle auf Fliesspapier getrocknet; trotzdem lösten sie sich nach dem Trocknen bei 110° im Wasser nicht mehr vollständig auf, ein Zeichen, dass Salzsäure fehlte.

Auch ein schwefelsaures Salz des Resaceteïns, das in Wasser und verdünnter Säure schwer löslich ist, haben wir erhalten. Resaceteïn wurde in 20 proc. Schwefelsäure in der Siedhitze gelöst, und aus der gesättigten, heiss filtrirten Lösung schieden sich beim Erkalten gelbe Krystallnadeln ab, die noch einmal aus heisser verdünnter $SO_4H_2$ umkrystallisirt, sodann auf dem Filter bis zum Verschwinden der Schwefelsäurereaction im Filtrate ausgewaschen und bei 110° getrocknet, mit der Formel $(C_6H_{12}O_4)_2SO_4H_2$ übereinstimmende Zahlen ergaben.

0.2301 g der Substanz, mit chromsaurem Blei verbrannt, gaben 0.514 g $CO_2$ und 0.0945 g $H_2O$, oder 60.86 Proc. C und 4.56 Proc. H.

0.2039 g gaben 0.0742 g $SO_4Ba$ oder 15.30 Proc. $SO_4H_2$.

Das Salz $(C_{16}H_{12}O_4)_2SO_4H_2$ enthält C 60.57 Proc., H 4.1 Proc. und 15.46 Proc. $SO_4H_2$.

In Alkalien löst sich das Resaceteïn mit prachtvoll rother Farbe, aber nur die ammoniakalische Lösung ist einigermaassen beständig. Die Lösung in fixen Alkalien oder auch Soda wird nach kurzer Zeit braungelb, und Säurezusatz scheidet daraus ein Harz ab. Zinkstaub entfärbt die ammoniakalische Lösung augenblicklich. Aus der filtrirten Lösung, die sich aber bald an der Luft roth färbt, wird durch Salzsäure das Reductionsproduct in gelben amorphen Flocken gefällt. Mit Brom giebt das Resaceteïn ein rothes Substitutionsproduct, das sich in Alkalien mit schön lilarother Farbe löst, das aber sehr unbeständig ist. Durch Einwirkung von salpetriger Säure auf Resaceteïn erhielten wir dagegen einen ziemlich beständigen Farbstoff, welcher Seide und Wolle braunroth färbt. Die Ausbeute an Resaceteïn ist nicht gross, zumal die Reindarstellung und Trennung der Farbstoffe mit Verlust verbunden ist. Aus 80 g Resorcin erhielten wir 30 g des Rohproductes und daraus nur etwa 10 g chemisch reines Resaceteïn. Ausser den beiden Farbstoffen enthielt die Schmelze stets noch geringe Mengen Resacetophenon.

Acetfluoresceïn. Diese Verbindung wird in Form ihres salzsauren Salzes aus den von der Reinigung des Resaceteïns herrührenden alkoholischen Laugen erhalten. Die alkoholischen Filtrate werden mit etwas Salzsäure versetzt und in flachen Schalen an der Luft stehen gelassen. Durch langsame Verdunstung des Alkohols scheidet sich das salzsaure Acetfluoresceïn theils harzig, theils in krystallinischen Drusen aus. Sie wurden auf ein Filter gesammelt und aus verdünnter Salzsäure zweimal umkrystallisirt. Das in homogenen, braungelben Nadeln auskrystallisirte Salz wurde in Ammoniak gelöst und die filtrirte Lösung mit überschüssiger

Essigsäure gefällt. Der entstandene, anfangs flockige braunrothe Niederschlag verwandelte sich beim Umschütteln in mikroskopische Krystallnadeln. Mit Wasser ausgewaschen und bei 110 bis 115° getrocknet, ergab dieses Präparat folgende Zahlen:

0.2418 g gaben 0.6574 g $CO_2$ und 0.1014 g $H_2O$, oder 74.18 Proc. C und 4.66 Proc. H.

0.2522 g gaben 0.6902 g $CO_2$ und 0.1065 g $H_2O$, oder 74.63 Proc. C und 4.65 Proc. H.

Diese Zahlen stimmen zu der Formel: $C_{24}H_{18}O_6$, aus welcher 74.61 Proc. C und 4.66 Proc. H berechnet werden.

Dass diese Formel der wirklichen Zusammensetzung des Acetfluoresceïns entspricht, bestätigen die Analysen des schwefelsauren Salzes, aus welchen die Formel: $C_{24}H_{18}O_5SO_4H_2$ hervorgeht.

Dieses Salz wird genau so wie das schwefelsaure Resaceteïn dargestellt. Es ist ebenfalls sehr schwer löslich. Durch wiederholtes Umkrystallisiren aus verdünnter Schwefelsäure haben wir es in ganz homogenen, mikroskopischen, concentrisch gruppirten Prismen erhalten. Mit Wasser ausgewaschen und bei 110 bis 115° bis zu constantem Gewichte getrocknet, ergab es folgende Zahlen:

0.2375 g gaben 0.5220 g $CO_2$ und 0.0952 g $H_2O$, oder 59.9 Proc. C und 4.45 Proc. H.

0.1988 g gaben 0.0961 g $SO_4Ba$ oder 20.47 Proc. $SO_4H_2$.

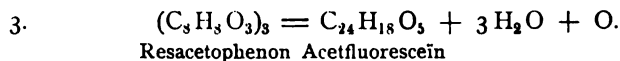
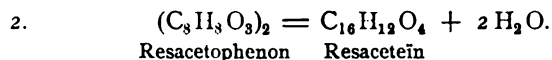
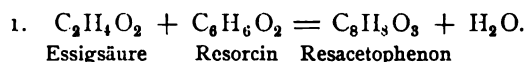
Die Verbindung $C_{24}H_{18}O_5SO_4H_2$ enthält: 59.5 Proc. C, 4.13 Proc. H und 20.27 Proc. $SO_4H_2$.

In Alkalien löst sich das Acetfluoresceïn mit gelbrother Farbe. Die stark verdünnten Lösungen zeigen eine schöne grüne Fluorescenz, die jedoch nicht so intensiv, wie die des Phtal- oder Succinylfluoresceïns ist. Da das Acetfluoresceïn neben dem Resaceteïn nur in geringer Menge entsteht, und auch die Reindarstellung mit ziemlichem Verlust verbunden ist, so haben wir, im Besitze nur geringer Mengen reiner Substanz, ihre weitere Untersuchung aufgegeben.

Betrachtet man nun den Verlauf der Reaction zwischen Resorcin und Essigsäure beim Erhitzen mit Chlorzink, so ergiebt sich, dass unter fortdauerndem Austritt von Wasser die Bildung immer complexerer Moleküle stattfindet. Man hat nämlich:

1. $C_2H_4O_2 + C_6H_6O_2 = C_8H_8O_3 + H_2O$.
Essigsäure Resorcin Resacetophenon

2. $(C_8H_8O_3)_2 = C_{16}H_{12}O_4 + 2H_2O$.
Resacetophenon Resaceteïn

3. $(C_8H_8O_3)_3 = C_{24}H_{18}O_5 + 3H_2O + O$.
Resacetophenon Acetfluoresceïn

Bei der Bildung des Acetfluoresceïns findet ausserdem noch Austritt von Sauerstoff statt.

Die bei Weitem interessantere Substanz ist das Resaceteïn. Wenn Gallacetophenon, mit Chlorzink erhitzt, sich gleich dem Resacetophenon verhält, so wird das entstandene Product die Zusammensetzung: $C_{16}H_{12}O_6$, d. h. die gleiche wie das Hämateïn haben müssen. In Wirklichkeit entsteht durch Erhitzen von Gallaceto-

phenon mit Chlorzink und Essigsäure ein Farbstoff, der sich mit schön violettrother Farbe in Alkalien löst, aber allem Anscheine nach kein Hämateïn ist. Ebenso könnte durch Erhitzen von Gall- und Resacetophenon mit Essigsäure und Chlorzink ein Farbstoff von der Zusammensetzung $C_{16}H_{12}O_5$, d. h. eine dem Brasileïn isomere Verbindung entstehen. Durch Erhitzen von Phenol mit Eisessig und Chlorzink in Verhältnissen, wie wir sie zur Darstellung der beschriebenen Oxyketone angewendet, ist es uns nicht gelungen, das Oxyacetophenon darzustellen. Als wir aber 1 Gewichtsthl. Phenol mit 2 Gewichtsthln. Eisessig und 3 Gewichtsthln. Chlorzink zum Sieden erhitzten, konnten wir aus der Schmelze einen amorphen, im trockenen Zustande schön rothen Farbstoff isoliren, welcher sich in Säuren mit gelblicher, in Alkalien mit schön himbeerrother Farbe löst und der durch seine Unbeständigkeit und Veränderlichkeit der Farbennüance lebhaft an die Blumenfarbstoffe erinnert. Seine Elementaranalyse ergab Zahlen, welche annähernd der Formel $C_{16}H_{12}O_2$ entsprechen. Wir sind mit der Untersuchung dieses, sowie des aus dem Gallacetophenon entstehenden Farbstoffes beschäftigt und wollen daher bis zur Beendigung dieser Untersuchung die Discussion über die molekulare Structur des Resaceteïns und seiner Homologen verschieben.

Bern, im April 1881.

---

# Ueber die Verbindungen der ein- und zweibasischen Fettsäuren mit Phenolen

von

**M. Nencki** und **W. Schmid.**

## Dritte Mittheilung.

Journ. prakt. Chem. 23, 546.

Chinacetophenon. Dieser Körper wird, ähnlich wie das Resacetophenon, durch Erhitzen von 1 Gewichtsthl. Hydrochinon mit 1.5 Gewichtsthln. Eisessig und 1.5 Gewichtsthln. Chlorzink auf 140 bis 145° erhalten. Aus der roth gefärbten Schmelze scheidet sich nach Wasserzusatz das Chinacetophenon krystallinisch aus, und die anfangs braun gefärbten Krystalle lassen sich leicht durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser, unter Zusatz von Thierkohle, in reinem Zustande erhalten. Eine schwach gelbgrüne Färbung scheint den Krystallen eigen zu sein. Die über Schwefelsäure getrocknete Substanz verliert im Luftbade bei 120° nichts mehr an Gewicht und die Elementaranalyse ergab mit der Formel $C_8H_8O_3$ übereinstimmende Zahlen.

0.3001 g, mit CuO verbrannt, gaben 0.6955 g $CO_2$ und 0.1444 g $H_2O$, entsprechend 63.21 Proc. C und 5.33 Proc. H. Die Verbindung $C_8H_8O_3$ enthält 63.15 Proc. C und 5.26 Proc. H.

Der Schmelzpunkt des Chinacetophenons liegt bei 202°. In Alkohol und Aether ist es leicht löslich, sehr wenig in kaltem Wasser und lässt sich sehr gut

aus heissem umkrystallisiren, wobei es sich in dendritischen, dem Salmiak ähnlichen Formen ausscheidet. In Alkalien löst es sich leicht, anfangs mit hellgelber Farbe, die jedoch bald an der Luft, namentlich beim Erwärmen, ins Braune übergeht. Mit Essigsäureanhydrid wurde ein krystallinisches Acetylderivat erhalten, welches wir jedoch nicht analysirt haben. Kalte wässerige Lösung des Chinacetophenons giebt mit Eisenchlorid eine tiefblaue Färbung, die jedoch bald verschwindet. Aehnlich wie Hydrochinon reducirt es alkalische Kupferlösungen.

Resaurin. In der ersten Mittheilung über die Verbindung der Fettsäuren mit Phenolen wurde von M. Nencki und N. Sieber[1]) erwähnt, dass Resorcin mit Ameisensäure und Chlorzink erhitzt, auf einander einwirken, und dass dabei eine rothe amorphe Substanz entsteht. Wir haben gesehen, dass die grösste Menge dieser Substanz sich dann bildet, wenn ein Gewichtsthl. Ameisensäure mit 2 Gewichtsthln. Resorcin und 2 Gewichtsthln. Chlorzink bei Anwendung von 20 g Resorcin etwa eine Stunde lang am Rückflusskühler auf 140 bis 145° erhitzt werden. Aus der erkalteten Schmelze scheidet sich nach Wasserzusatz in reichlicher Menge das neue Product aus, das abfiltrirt, mit Wasser ausgewaschen und getrocknet wird. Man reinigt am zweckmässigsten die Substanz durch wiederholtes Umkrystallisiren aus 50 proc. Alkohol, bis sie in verdünnter alkalischer Lösung keine, oder nur eine sehr schwache Fluorescenz zeigt; das durch Wasser abgeschiedene Rohproduct hingegen fluorescirt in alkalischer Lösung ziemlich intensiv grün. In reinem Zustande ist die Substanz ein hell ziegelrothes, stark hygroskopisches, amorphes Pulver, das bei 110° getrocknet und mit CuO verbrannt, folgende Zahlen lieferte:

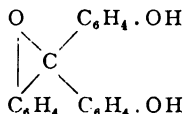
1. 0.2379 g gaben 0.5856 g $CO_2$ und 0.0893 g $H_2O$, oder 67.13 Proc. C und 4.16 Proc. H.

2. 0.2674 g gaben 0.6581 g $CO_2$ und 0.1002 g $H_2O$, entsprechend 67.13 Proc. C und 4.15 Proc. H.

Die erhaltenen Zahlen stimmen gut mit der Formel $C_{19}H_{14}O_6$ überein, wie aus folgender Zusammenstellung ersichtlich:

| Versuch. | | Die Verbindung $C_{19}H_{14}O_6$ enthält: | |
|---|---|---|---|
| C | 67.13 und 67.13 Proc. | C | 67.43 Proc. |
| H | 4.16 „ 4.15 „ | H | 4.16 „ |

Wie man sieht, ist diese Substanz dem Aurin homolog. Die Arbeiten von Zulkowsky[2]), Graebe und Caro[3]), E. und O. Fischer[4]), sowie die von Dale und Schorlemmer[5]) haben gezeigt, dass das Aurin die Zusammensetzung $C_{19}H_{14}O_3$ hat. Da ferner nach den Untersuchungen der genannten Forscher dem Aurin die Structurformel:

```
O     C6H4.OH
|\   /
| C
|/   \
C6H4  C6H4.OH
```

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **23**, 151. — Dieser Band S. 574.

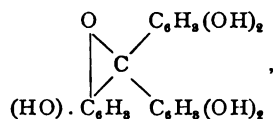
[2]) Zulkowsky, Ann. Chem. Pharm. **202**, 179.

[3]) Ber. **11**, 1116, 1348.

[4]) Ann. Chem. Pharm. **194**, 242,

[5]) Daselbst **196**, 75.

zukommt, so ergiebt sich für unsere Substanz folgende Structurformel:

$$\begin{array}{l} O \quad\; C_6H_3(OH)_2 \\ \;\;\diagdown\;\diagup \\ \;\;\;\; C \\ \;\;\diagup\;\diagdown \\ (HO).C_6H_3 \quad C_6H_3(OH)_2 \end{array},$$

weshalb wir sie auch mit dem Namen Resaurin bezeichnen wollen.

In Ammoniak und fixen Alkalien löst sich das Resaurin mit gelbrother Farbe. Die Lösung in fixen Alkalien wird beim Kochen schön dunkelroth. In Alkohol ist es leicht löslich, kaum in Aether; ebenfalls wenig löslich ist es in Essigsäure und verdünnten Mineralsäuren. Mit dem Resaurin ist allem Anscheine nach der Körper, den Claus und Andreae[1]) durch Erhitzen von Resorcin mit Oxalsäure auf 200° erhielten und den sie als Diresorcinketon bezeichnen, identisch. Dass die genannten Chemiker keineswegs reine Substanz in den Händen hatten, geht schon aus den von ihnen mitgetheilten Analysen hervor.

Schon der Umstand, dass durch Erhitzen von Ameisensäure und Resorcin mit Chlorzink in glatter Reaction eine dem Aurin homologe Substanz entsteht, machte die Frage interessant, wie unter den gleichen Bedingungen Phenol sich verhalten würde. Wir haben daher 5 g Ameisensäure, 15 g Phenol und 20 g Chlorzink in einem kleinen Kolben am Rückflusskühler etwa 1 Stunde auf 140 bis 150°, bis die Schmelze eine tief gelbrothe Farbe angenommen hatte, erhitzt. Zur Entfernung des Chlorzinks wurde die erkaltete Schmelze, die noch unverändertes Phenol enthielt, mit Wasser ausgewaschen. Der harzige Rückstand löste sich in Ammoniak mit fuchsinrother Farbe auf. Die filtrirte Lösung wurde mit ziemlich viel überschüssiger Salzsäure versetzt, wodurch sich die Flüssigkeit gelb färbte. Nach ein- bis zweitägigem Stehen scheiden sich aus der salzsauren Lösung sehr feine, mikroskopische, gelbe Nadeln aus. Sie wurden abfiltrirt, mit Wasser ausgewaschen, von Neuem in Ammoniak gelöst und durch genaue Neutralisation mit Essigsäure die Substanz in rothen Flocken gefällt. Dieses Product, mit Wasser ausgewaschen und bei 110° getrocknet, ergab zwar mit der Formel des Aurins keine genau stimmende Zahlen. (Gefunden 77.7 Proc. C und 5.2 Proc. H; berechnet 78.6 Proc. C und 4.8 Proc. H.) Die Eigenschaften unseres Productes und dessen ganzes Verhalten lassen jedoch kaum einen Zweifel übrig, dass es in reinem Zustande mit dem Aurin identisch sein wird. Zum Schlusse möchten wir noch erwähnen, dass Orcin, mit Ameisensäure und Chlorzink erhitzt, sich ähnlich wie Resorcin verhält, und dass wir aus der Schmelze das neue krystallinische Product isolirt haben.

Diese Untersuchungen werden fortgesetzt.

Bern, im April 1881.

---

[1]) Ber. **10**, 1305.

# Zur Kenntniss der Fäulnissproducte des Gehirns

von

**Florian Stöckly.**

In.-Diss. Bern. — Journ. prakt. Chem. 24, 17.

Im Verlaufe seiner Untersuchungen über die Fäulniss machte vor Kurzem Herr Prof. Nencki die Beobachtung, dass, wenn Hirnsubstanz mit Wasser zu Brei angerührt, bei der Bruttemperatur fault, nicht wie aus reinem Eiweiss oder aus anderen Geweben des Thierkörpers Indol, sondern vorwiegend Skatol neben Spuren von Indol entstehen [1]). Die Reaction der faulenden Masse, ob schwach sauer oder alkalisch, war von keinem Einfluss auf die Skatolbildung. Es war nun zu erwarten, dass in diesem Falle, wo statt Indol hauptsächlich Skatol entstanden, auch noch andere, vielleicht bis jetzt nicht isolirte Fäulnissproducte auftreten werden. Auf Veranlassung von Herrn Prof. Nencki habe ich die hierauf bezüglichen Untersuchungen unternommen und will im Folgenden die bis jetzt erhaltenen Resultate mittheilen. Nencki erhielt die relativ grösste Menge Skatol nach sechs- bis achttägiger Fäulniss des Gehirns, und da zu erwarten war, dass die Zersetzung der Hirnsubstanz zu dieser Zeit eine ziemlich vollständige sein würde, so liess ich Anfangs, um möglichst grosse Mengen der Spaltungsproducte zu erhalten, auch in meinen Versuchen die Fäulniss eben so lange andauern. Rinderhirn in Portionen von 0.5 bis 1 kg wurde mit dem sechsfachen Gewichte Wasser bei 35 bis 40° acht Tage lang digerirt, sodann schwach mit Essigsäure angesäuert, und die Flüssigkeit aus tubulirten Retorten bis auf etwa ein Drittel des ursprünglichen Volumens abdestillirt. Das Destillat wurde mit Natronlauge neutralisirt und mit Aether ausgeschüttelt. Der ätherische Rückstand, welcher, wie die genauere Untersuchung zeigte, fast nur aus Skatol und Parakresol bestand, wurde zur Trennung der beiden Substanzen mit etwas Wasser versetzt, und so lange destillirt, bis eine Probe des Destillates, mit Pikrinsäure und Salzsäure versetzt, keine Fällung von pikrinsaurem Skatol mehr gab. Durch Destillation der Pikrinsäureverbindung mit wässerigem Ammoniak wurde das freie Skatol mit Spuren von Indol erhalten. Nach ein- oder zweimaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser war das Skatol indolfrei. Aus dem Retortenrückstande wurde dann, nach Entfernung des Skatols, durch Ansäuern mit Schwefelsäure und wiederholte Destillation Parakresol gewonnen, welches aus dem Destillate sich in Oeltröpfchen abschied. Das Destillat, welches mit Bromwasser Tribromphenol lieferte, wurde durch Eisenchlorid blau gefärbt. Man kann demnach ziemlich sicher annehmen, dass hauptsächlich Parakresol, vielleicht mit geringen Mengen Phenol vermengt, vorlag.

Zur Untersuchung der mit Wasserdämpfen nicht flüchtigen Producte wurden die Retortenrückstände, herrührend von 5 kg gefaulter Hirnsubstanz, in Arbeit genommen. Sie wurden filtrirt und auf dem Wasserbade bis zum stärksten Syrup

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 4, 371. — Dieser Band S. 537.

concentrirt. Es schieden sich hierbei nur anorganische Salze, Phosphate und Chloralkalien ab. Um diese zu entfernen, wurde der Syrup mit heissem Alkohol verdünnt und filtrirt. Da weder aus der alkoholischen Lösung, noch nach dem Verdunsten des Alkohols beim Erkalten Krystallisation erfolgte, so wurde der syrupöse Rückstand mit Schwefelsäure angesäuert und mit Aether extrahirt. Vom Aether wurden ziemliche Mengen Fettsäuren und eine aromatische Säure, nämlich die Hydrozimmtsäure, aufgenommen. Das ölige Säuregemisch wurde zunächst mit Wasser gewaschen, sodann über Chlorcalcium getrocknet und rectificirt. Die Flüssigkeit begann bei 118° zu sieden und der Quecksilberfaden stieg allmählich bis auf 200°, ohne constanten Siedepunkt zu zeigen. Es waren dies Fettsäuren von der Essigsäure bis zur Capronsäure inclusive. Die Anwesenheit dieser letzteren Säure wurde durch die Guanaminreaction nachgewiesen. Die zwischen 195 bis 200° übergegangene Fraction wurde mit kohlensaurem Guanidin neutralisirt und durch Erhitzen des Salzes auf 230° die für das Guanamin der Capronsäure charakteristischen Krystalle (quadratische Pyramiden) erhalten. Von nun an stieg der Quecksilberfaden ziemlich rasch, und zwischen 270 bis 280° ging fast Alles über. Durch wiederholte Rectification des über 200° siedenden Antheils wurde schliesslich ein constant zwischen 275 bis 280° siedendes Product erhalten, das durch genauere Untersuchung als Hydrozimmtsäure erkannt wurde. Für die Gewinnung und Reindarstellung dieser Säure aus gefaultem Hirn haben wir übrigens später ein zweckmässigeres und ausgiebigeres Verfahren angewandt. Das nach dem Abdestilliren des Aethers zurückbleibende Gemisch von Fettsäuren und Hydrozimmtsäure wurde auf dem Wasserbade unter Zusatz von Wasser so lange erwärmt, bis der grösste Theil der Fettsäuren sich verflüchtigte, und nach erneutem Wasserzusatz die Hydrozimmtsäure als eine ölige Flüssigkeit sich am Boden des Gefässes absetzte. Die ölig abgeschiedene Säure wird hierauf in Alkohol gelöst und die Lösung auf dem Wasserbade mit Zinkoxydhydrat erwärmt. Aus der filtrirten Lösung scheidet sich beim Erkalten oder nach Wasserzusatz das hydrozimmtsaure Zink in perlmutterglänzenden Krystallblättchen ab, welche durch Umkrystallisiren aus verdünntem Alkohol, eventuell unter Zusatz von Thierkohle, leicht weiss erhalten werden.

Die Elementaranalyse eines so dargestellten Salzes ergab folgende Zahlen:

0.3399 g des Zinksalzes, im offenen Rohre mit Kupferoxyd verbrannt, gaben

0.7398 g $CO_2$,
0.1633 „ $H_2O$,
0.0766 „ $ZnO$,

oder in Procenten:

| Gefunden | | | Berechnet für $(C_6H_5 . CH_2 . CH_2 . CO_2)_2Zn$ | | |
|---|---|---|---|---|---|
| C | 59.35 | Proc. | C | 59.49 | Proc. |
| H | 5.33 | „ | H | 4.95 | „ |
| Zn | 18.08 | „ | Zn | 17.02 | „ |

Aus dem Zinksalze kann durch Zersetzen mit Salzsäure leicht die freie Säure krystallinisch erhalten werden. Herr Prof. Nencki hat zuerst dieses Zinksalz unter den Händen gehabt. In einer kurzen Mittheilung [1]), wo er die Bildung des Skatols

[1]) Centralbl. f. med. Wissensch. 1878, Nr. 47. — Dieser Band S. 433.

durch Eiweissfäulniss bei niedriger Temperatur beschreibt, erwähnt er, dass er „ausserdem noch eine syrupöse, in Aether lösliche, in Wasser unlösliche und darin untersinkende Säure erhalten habe, welche, mit Zinkoxydhydrat gekocht, ein stickstofffreies, in Wasser lösliches und in undeutlichen Blättern krystallisirendes Zinksalz lieferte". Dieses Zinksalz erwies sich bei näherer Untersuchung als das der Hydrozimmtsäure.

Die kurz darauf von E. Salkowski [1]) und E. und H. Salkowski [2]) publicirte Mittheilung, dass sie aus den Producten der Eiweissfäulniss Phenylessigsäure und Hydrozimmtsäure isolirten, hat ihn von weiterer Verfolgung dieses Gegenstandes abgehalten. Bemerkenswerth ist der Umstand, dass sowohl bei der Eiweissfäulniss in niedriger, als wie auch der des Gehirns bei der Bruttemperatur, wo statt Indol Skatol auftritt, immer Hydrozimmtsäure erhalten wurde, und die Vermuthung liegt nahe, dass die beiden Substanzen in genetischem Zusammenhange zu einander stehen. Die Menge der aus Hirn so erhaltenen Hydrozimmtsäure war übrigens ziemlich beträchtlich. Aus 5 kg Hirn wurden etwas mehr als 20 g der Säure gewonnen. Ob die Hydrozimmtsäure nur aus dem Eiweiss des Gehirns, oder, worauf die grosse Menge der erhaltenen Säure hindeutet, aus anderen Bestandtheilen des Hirngewebes bei der Fäulniss entstanden, kann erst durch spätere Untersuchungen beantwortet werden. Ausser den bis jetzt aufgezählten Producten habe ich neben geringen Mengen Pepton und Spuren von Leucin keine weiteren Spaltungsproducte nach achttägiger Fäulniss des Gehirns erhalten. Auch darin war also die Fäulniss des Gehirns der durch Nencki beschriebenen Fäulniss des Eiweisses bei niedriger Temperatur gleich, welcher ausser Skatol und Hydrozimmtsäure „keine anderen krystalloïden Producte — kein Tyrosin und kein Leucin mehr — erhielt" [3]). Um daher eine so vollständige Zersetzung durch die Fäulniss zu vermeiden und die einzelnen Phasen derselben kennen zu lernen, habe ich eine Reihe von Versuchen ausgeführt, bei welchen Hirnsubstanz bei der Bruttemperatur verschieden lange Zeit der Fäulniss überlassen wurde. Da die Gewinnung der mit Wasserdämpfen flüchtigen Producte vernachlässigt wurde, so geschah die Verarbeitung der faulenden Masse in der Weise, dass sie zum Sieden erhitzt, filtrirt (was trotz des häufigen Wechsels der Filter längere Zeit in Anspruch nahm) und das Filtrat auf dem Wasserbade concentrirt wurde. Als sehr zweckmässig für die Reingewinnung der krystalloïden Producte erwies sich der Zusatz von Kupfervitriollösung zu dem schwach alkalich reagirenden Filtrate, bis keine Fällung mehr entstand. Es werden hierdurch gelöstes Eiweiss, ein Theil der anorganischen Salze und schmierige Materien entfernt. Das von überschüssigem Kupfer durch Schwefelwasserstoff befreite Filtrat wurde nunmehr auf dem Wasserbade zum Syrup bis zur beginnenden Krystallisation eingedampft, einige Stunden in der Kälte stehen gelassen und filtrirt. Das von den abgeschiedenen Krystallen erhaltene Filtrat wurde mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Aether extrahirt. Ich habe auf diese Weise je nach der Dauer der Fäulniss: Amidosäuren,

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **2**, 420.
[2]) Ber. **12**, 107.
[3]) Centralbl. f. med. Wissensch. 1878, Nr. 47. — Dieser Band S. 433.

hauptsächlich aus Leucin bestehend, flüchtige Fettsäuren, Hydrozimmtsäure und Bernsteinsäure isoliren können.

Aehnlich wie bei der Fäulniss reinen Eiweisses treten schon in den ersten Stunden, auch bei der des Gehirns, neben den Amidosäuren auch flüchtige Fettsäuren, und nach 24 Stunden Hydrozimmtsäure auf. Ein ebenfalls früh auftretendes Product ist die Bernsteinsäure. Die relativ grösste Menge dieser Säure wird nach 24 stündiger Fäulniss bei der Bruttemperatur erhalten. Um die Säure in für Analysen hinreichender Menge zu erhalten, wurden die vom Leucin abfiltrirten Laugen, herrührend von 3 kg Hirnsubstanz, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Aether extrahirt. Der ätherische Rückstand enthielt ausser flüchtigen Fettsäuren und minimalen Mengen Hydrozimmtsäure hauptsächlich Bernsteinsäure, welche beim Eindampfen des Rückstandes auf dem Wasserbade auskrystallisirte. Ich erhielt etwa 1 g des Rohproductes, das, wiederholt aus heissem Wasser umkrystallisirt, alle Eigenschaften der Bernsteinsäure besass und auch bei der Elementaranalyse mit der Formel $C_4H_6O_4$ übereinstimmende Zahlen ergab.

Von 0.2544 g der Substanz erhielt ich:

0.3789 g $CO_2$, entsprechend 0.1033 g C,
0.1201 „ $H_2O$, „ 0.0133 „ H,

oder in Procenten:

| Gefunden | | | Berechnet für $C_2H_4\left\{\begin{matrix}COOH\\COOH\end{matrix}\right.$ | | |
|---|---|---|---|---|---|
| C | 40.65 | Proc. | C | 40.68 | Proc. |
| H | 5.23 | „ | H | 5.08 | „ |
| O | 54.12 | „ | O | 54.15 | „ |

Wie schon erwähnt, wurde die grösste Menge Bernsteinsäure nach 24 stündiger Fäulniss erhalten. Doch konnte ich sie nach 6 stündigem Faulen aus 1 kg Hirnsubstanz isoliren. Nach 48 stündiger Fäulniss konnte ich sie aus den Aetherextracten nicht mehr erhalten. Es tritt jetzt neben den Fettsäuren vorwiegend die Hydrozimmtsäure auf. Diese letztere Säure entsteht erst nach 24 stündiger Fäulniss, und ihre grösste Menge wird nach achttägiger Fäulniss erhalten. — Um zu sehen, ob die Bernsteinsäure vielleicht schon im frischen Gehirn vorkommt, wurden 1100 g Rinderhirn von eben getödteten Thieren, genau wie oben angegeben, verarbeitet. Der Aetherrückstand enthielt weder Bernsteinsäure noch Hydrozimmtsäure und in minimalen Mengen flüchtige Fettsäuren. Die Bernsteinsäure wird also erst durch die weitere Zersetzung eines der Hirnbestandtheile, und zwar sehr wahrscheinlich des Glycogens, gebildet. Im Beginn der Fäulniss, in den ersten drei bis fünf Stunden, reducirt die faulende Flüssigkeit alkalische Kupferlösungen, ähnlich wie dies nach Beobachtungen von M. Ekunina bei Muskeln und namentlich bei Leber der Fall ist [1]). In den späteren Stunden verschwindet diese reducirende Substanz. Da nun nach den Untersuchungen Ekunina's das Glycogen durch Spaltpilze in Milchsäure oder Bernsteinsäure verwandelt wird, und bei der Fäulniss der Lebersubstanz, des glycogenreichsten Gewebes, relativ die grösste Menge Milchsäure und Bernsteinsäure gebildet wird, so ist die Annahme, dass die bei der Hirnfäulniss auftretende Bernsteinsäure von dem Hirnglycogen herrühre, durchaus berechtigt. Dass der post-

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **21**, 478. — Dieser Band S. 555.

mortale Schwund des Glycogens im Muskel nichts mit der Todtenstarre zu thun hat und nur Folge der eintretenden Fäulniss ist, geht aus den vor Kurzem publicirten interessanten Untersuchungen Böhm's[1]) hervor. Nur seine Erklärung über den Eintritt der Fäulniss im Muskel, „es seien offenbar die bei der fauligen Zersetzung des Blutes und des Darminhaltes gebildeten Gase (!), die rasch auch zu den Muskeln diffundiren und auch dort eine faulige Entmischung einleiten“, keineswegs eine glückliche.

Die basischen Producte der Hirnfäulniss habe ich nicht untersucht, da bereits hierüber Angaben von F. Selmi[2]) vorliegen. Selmi erhielt aus dem Gehirn von Leichen, die nach ein bis drei Monaten ausgegraben wurden, in grosser Menge Trimethylamin. Bemerken möchte ich nur, dass die von Selmi beobachtete, beim Eindampfen des Destillates mit Salpetersäure eintretende rothe Färbung sehr wahrscheinlich von Hydrozimmtsäure herrührte.

Selbstverständlich konnte bei meinen Untersuchungen keine Rücksicht auf die etwaige Verschiedenheit der Fäulnissproducte aus der grauen und der weissen Hirnsubstanz genommen werden. Um die Hydrozimmtsäure und Bernsteinsäure in für Analysen hinreichender Menge zu isoliren, mussten stets grosse Quantitäten Hirn (nie unter 1 kg) verarbeitet werden, was eine Trennung der beiden Hirnsubstanzen viel zu umständlich gemacht hätte.

Bern, Nencki's Laboratorium, 2. April 1881.

---

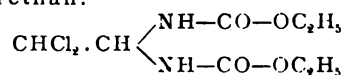
# Zur Kenntniss des Urethans

von

**W. Schmid.**

Journ. prakt. Chem. 24, 120

Im 33. Bande, S. 92 (Jahrg. 1840) der Liebig'schen Annalen hat Stenhouse eine von ihm durch Einleiten von Chlor in alkoholische Cyanquecksilber- oder Cyanwasserstofflösung erhaltene Verbindung von der Zusammensetzung $C_8H_{14}N_2Cl_2O_4$ beschrieben. Die molekulare Constitution dieser Verbindung wurde erst 30 Jahre später von C. Bischoff[3]) erkannt, welcher zeigte, dass dieser Körper nichts anderes als Dichloräthylidenurethan:

$$CHCl_2.CH\begin{cases}NH-CO-OC_2H_5\\NH-CO-OC_2H_5\end{cases}$$

sei. Sodann fand Bischoff, dass beim Einleiten von Chlor in stark cyanwasserstoffhaltigen und auf 0° abgekühlten Alkohol auch das Monochloräthylidenurethan entsteht, und stellte ferner nach dem Vorgange Nencki's[4]) aus Urethan und Aldehyden eine ganze Reihe ähnlich constituirter Verbindungen dar.

---

1) Pflüger's Archiv **23**, 53.

2) Di alcuni prodotti volatili del cervello putrefatto. Gazetta Chimica Italiana **6**, 408.

3) Ber. **7**, 628.

4) Ber. **7**, 158.

Gelegentlich anderweitiger Versuche habe ich nun gefunden, dass durch directe Einwirkung von Chlor auf Urethan, resp. Aethylidenurethan das Dichlor- und Monochloräthylidenurethan leicht und in nahezu berechneter Menge erhalten werden können.

Wird nämlich trockenes Chlorgas in das auf 90 bis 100° erwärmte Urethan in mässigem Strome eingeleitet, so wird Chlor absorbirt und das bei dieser Temperatur flüssige Urethan verwandelt sich allmählich in eine feste, weisse, krystallinische Masse. Das neue Product, unlöslich in Wasser, aber leicht löslich in Alkohol, wird durch Umkrystallisiren aus 50 proc. Alkohol leicht rein in Form feiner weisser Nadeln erhalten. Die Elementaranalyse eines so dargestellten und über Schwefelsäure getrockneten Präparates ergab folgende Zahlen.

0.2886 g der Substanz, mit chromsaurem Blei und vorgesetzter Kupferspirale verbrannt, lieferten 0.3730 g $CO_2$ und 0.1424 g $H_2O$ oder 35.24 Proc. C und 5.47 Proc. H.

0.2522 g der Substanz lieferten 0.3272 g $CO_2$ und 0.1240 g $H_2O$ oder 35.36 Proc. C und 5.47 Proc. H.

0.3371 g der Substanz gaben bei 717.5 mm Barometerstand und 15°: 31.6 ccm N, entsprechend 10.31 Proc. N.

0.2896 g der Substanz gaben bei 716.0 mm Barometerstand und 13°: 26.8 ccm N, entsprechend 10.31 Proc. N.

0.2110 g der Substanz, mit $NO_3H$ und $AgNO_3$ im zugeschmolzenen Rohre erhitzt, gaben 0.2208 g AgCl oder 25.98 Proc. Cl.

0.1770 g der Substanz gaben 0.1574 g AgCl oder 25.93 Proc. C.

Die erhaltenen Zahlen stimmen gut mit der Formel des Dichloräthylidenurethans, $C_8H_{14}N_2Cl_2O_4$, überein:

| | Berechnet: | Gefunden: | |
|---|---|---|---|
| C | 35.19 Proc. | 35.34 | 35.36 Proc. |
| H | 5.16 „ | 5.47 | 5.47 „ |
| N | 10.25 „ | 10.31 | 10.31 „ |
| O | 26.07 „ | 25.98 | 25.93 „ |

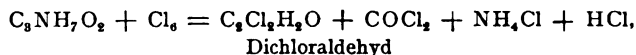
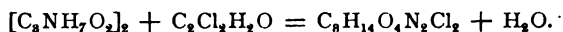
Schon die Resultate dieser Analysen machten es sehr wahrscheinlich, dass dieser Körper mit dem von Stenhouse aus Chlor und alkoholischen Cyanquecksilber- oder Cyanwasserstofflösungen dargestellten, und von C. Bischoff als Dichloräthylidenurethan erkannten Körper identisch sei. Der vollständigen Sicherheit halber wurde der Stenhouse'sche Körper durch Einleiten von Chlor in alkoholische Cyanquecksilberlösung dargestellt. Die Reaction verlief ganz wie Stenhouse dieselbe beschrieben; die entstandene Verbindung wurde umkrystallisirt und mit der von mir aus Chlor und Urethan dargestellten verglichen.

Beide Körper krystallisiren in langen, feinen und farblosen Nadeln. Mit concentrirter Schwefelsäure gelinde erwärmt, lösen beide Körper sich unter geringer Bräunung auf und werden durch Wasser anscheinend unverändert wieder ausgefällt. Wurden beide Körper mit concentrirter Schwefelsäure stärker erwärmt, so gaben dieselben einen stechenden, an Chloral erinnernden Geruch. Der Schmelzpunkt des Stenhouse'schen Körpers wurde bei 120°, der des von mir erhaltenen bei 122°

(uncorrigirt) gefunden. Was die Verschiedenheit der Schmelztemperaturen anbetrifft, so halte ich den von mir bei 122⁰ gefundenen für richtiger, da die aus Chlor und Urethan dargestellte Substanz bedeutend leichter rein erhalten werden kann, als die nach dem Stenhouse'schen Verfahren erhaltene. Aus der sonstigen Uebereinstimmung der beiden Substanzen geht zweifellos ihre Identität hervor. Die Bildung der Verbindung aus Chlor und Urethan kann man sich nach folgendem Schema erklären:

$$C_3NH_7O_2 + Cl_6 = \underset{\text{Dichloraldehyd}}{C_2Cl_2H_2O} + COCl_2 + NH_4Cl + HCl,$$

und in der zweiten Phase:

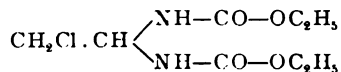
$$[C_3NH_7O_2]_2 + C_2Cl_2H_2O = C_8H_{14}O_4N_2Cl_2 + H_2O.$$

Das Chlorkohlenoxyd setzt sich dann mit Wasser sofort zu Kohlensäure und Salzsäure um. In der That entsteht dabei, wie ich mich überzeugt habe, ausser Dichloräthylidenurethan nur noch Chlorammonium und Kohlensäure. Die Ausbeute an der ersten Verbindung beträgt 80 Proc. der berechneten Menge.

Es war nun von Interesse, zu erfahren, ob durch die Einwirkung von Chlor auf Aethylidenurethan ebenfalls der Stenhouse'sche Körper entstehen werde. Zu dem Zwecke wurde trockenes Chlorgas in eine gesättigte Lösung von Aethylidenurethan in absoluten Alkohol eingeleitet, bis die Flüssigkeit, welche sich dabei auf 60 bis 70⁰ erwärmte, auch nach dem Abkühlen kein Chlor mehr absorbirte. Wasserzusatz fällt nun aus der alkoholischen Lösung einen weissen krystallinischen Körper, der durch Umkrystallisiren aus 50 Proc. Alkohol gereinigt wurde. Derselbe krystallisirt in feinen farblosen Nadeln und schmilzt bei 148⁰ (uncorrigirt). Die Analyse der über Schwefelsäure getrockneten Substanz ergab folgende Zahlen:

0.2396 g der Substanz gaben 0.3571 g $CO_2$ und 0.1484 g $H_2O$ oder 40.65 Proc. C und 6.88 Proc. H.

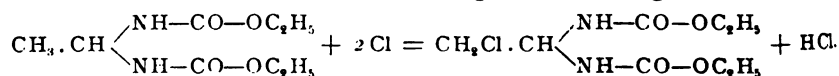
0.2720 g der Substanz gaben 0.1634 g AgCl oder 14.85 Proc. Cl.

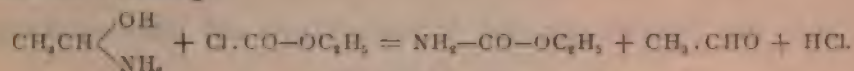
Diese Zahlen lassen keinen Zweifel, dass die durch Einleiten von Chlor in alkoholische Aethylidenurethanlösung erhaltene Substanz identisch ist mit dem früher von C. Bischoff aus Monochloracetal und Urethan dargestellten Monochloräthylidenurethan:

$$CH_2Cl.CH\begin{cases}NH-CO-OC_2H_5\\NH-CO-OC_2H_5\end{cases}$$

Die Verbindung $C_8H_{15}N_2ClO_4$

| | enthält: | gefunden: |
|---|---|---|
| C | 40.26 Proc. | 40.65 Proc. |
| H | 6.29 „ | 6.88 „ |
| Cl | 14.88 „ | 14.85 „ |

Ebenso stimmt der von Bischoff bei 147⁰ gefundene Schmelzpunkt damit überein. Auch hier beträgt die Ausbeute an Monochloräthylidenurethan wenigstens 80 Proc. der berechneten Menge. Die Bildung des Chloräthylidenurethans erfolgt demnach durch einfache Substitution nach folgender Gleichung:

$$CH_3.CH\begin{cases}NH-CO-OC_2H_5\\NH-CO-OC_2H_5\end{cases} + 2\,Cl = CH_2Cl.CH\begin{cases}NH-CO-OC_2H_5\\NH-CO-OC_2H_5\end{cases} + HCl.$$

Wilm und Wischin[1]) geben an, dass durch „Zusammenbringen" von Aldehydammoniak und Chlorkohlensäureäther, Urethan, Aldehyd und Salzsäure entstehen gemäss der Gleichung:

$$CH_3CH\langle^{OH}_{NH_2} + Cl.CO-OC_2H_5 = NH_2-CO-OC_2H_5 + CH_3.CHO + HCl.$$

Da ich für die oben beschriebenen Versuche grössere Quantitäten Aethylidenurethan nach Nencki's[2]) Vorschrift darstellte, und gerade bei Gegenwart von Salzsäure Aldehyd mit Urethan sich unter Wasseraustritt zu Aethylidenurethan vereinigen, so war uns die obige Angabe von Wilm und Wischin befremdend, insofern in der Reaction von Chlorkohlensäureäther auf Aldehydammoniak alle zur Bildung des Aethylidenurethans nöthigen Bedingungen zusammentreffen. Dass in der That die Umsetzung zwischen Chlorkohlensäureäther und Aldehydammoniak in dem zuletzt angedeuteten Sinne stattfindet, geht aus Folgendem hervor. 32 g Chlorkohlensäureäther und 25 g Aldehydammoniak (äquivalente Mengen) wurden drei Tage lang in einem lose verschlossenen Kolben bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Das Aldehydammoniak löste sich zuerst auf, und unter Entwickelung von Wärme erstarrte die Lösung nach dieser Zeit zu einem weissen Krystallbrei. Die gebildete Substanz wurde durch Waschen mit Benzol von dem noch anhängenden Chlorkohlensäureäther befreit und durch Umkrystallisiren aus möglichst wenig heissem Wasser gereinigt. Die zur Elementaranalyse über Schwefelsäure getrocknete Substanz ergab folgende Zahlen:

0.3218 g der Substanz gaben 0.5555 g $CO_2$ und 0.2421 g $H_2O$ oder 47.08 Proc. C und 8.35 Proc. H.

0.3407 g der Substanz gaben bei 724.0 mm Barometerstand und 20°, 42.5 ccm N oder 13.62 Proc. N.

Das Aethylidenurethan: $C_8H_{16}N_2O_4$

| | enthält: | gefunden: |
|---|---|---|
| C | 47.05 Proc. | 47.08 Proc. |
| H | 7.84 „ | 8.35 „ |
| N | 13.72 „ | 13.62 „ |

Der Schmelzpunkt liegt bei 125° (uncorrigirt). Die Substanz ist demnach mit dem von Nencki durch Einwirkung von Aldehyd auf Urethan erhaltenen Aethylidenurethan identisch. Ich habe vielfach Aethylidenurethan aus Chlorkohlensäureäther und Aldehydammoniak bereitet. Es ist dabei zu beachten, dass die Reaction möglichst langsam bei niedriger Temperatur erfolge. Wird das Gemisch der beiden Substanzen gelinde erwärmt, so findet eine stürmische Reaction statt; es entweicht Aldehyd und in der Flüssigkeit findet sich Urethan. Wie schon hervorgehoben, zerfällt Aethylidenurethan, mit Salzsäure erwärmt, rasch in Aldehyd und Urethan. Wahrscheinlich haben auch Wilm und Wischin Chlorkohlensäureäther auf Aldehydammoniak bei höherer Temperatur einwirken lassen, und deshalb nicht Aethylidenurethan, sondern Aldehyd und Urethan erhalten.

Nencki's Laboratorium in Bern.

[1]) Ann. Chem. Pharm. **147**, 154.

[2]) Ber. **7**, 158. — Dieser Band S. 74.

# Ueber die Einwirkung der Schwefelsäure auf Citronensäure und Resorcin

von

**Max Wittenberg.**

Journ. prakt. Chem. 24, 125.

Die Resultate der Untersuchungen von M. Nencki, N. Sieber und W. Schmid: „Ueber die Verbindungen der ein- und zweibasischen Fettsäuren mit Phenolen“ [1]) machten es wünschenswerth, auch das Verhalten der mehrbasischen Fettsäuren zu Phenolen bei Gegenwart wasserentziehender Agentien kennen zu lernen.

Von den mehrbasischen Fettsäuren ist die Citronensäure am leichtesten zu beschaffen. Ich habe deshalb zunächst das Verhalten dieser Säure beim Erhitzen mit Resorcin und concentrirter Schwefelsäure zum Gegenstande einer Untersuchung gewählt und gefunden, dass in der That dabei eine Reaction stattfindet, und ein krystallinisches, wohl charakterisirtes Product entsteht, welches ich im Folgenden beschreiben will.

Werden 1 Thl. der bei 150° getrockneten Citronensäure, 1 Thl. Resorcin und 2.5 Thle. englischer Schwefelsäure in einem geräumigen Kolben im Oel- oder auf dem Sandbade allmählich erhitzt, so geräth die Schmelze in starkes Schäumen, wobei ausser Wasser hauptsächlich Kohlenoxyd, daneben Kohlensäure und schweflige Säure entweichen. Bei Anwendung von 60 g Citronensäure, 60 g Resorcin und 150 g concentrirte Schwefelsäure habe ich die Schmelze etwa eine Stunde lang auf 180° erhitzt, bis das Schäumen nachgelassen und die Schmelze kleinblasig geworden. Bei Anwendung von 15 g Citronensäure genügt ein halbstündiges Erhitzen auf 180°.

Nach dem Erkalten wird die Schmelze mit Wasser versetzt und einige Zeit stehen gelassen. Das neue Product scheidet sich hierbei als stark braun gefärbte, zum Theil harzige Masse ab. Nach mehrstündigem Stehen wird filtrirt und der auf Fliesspapier getrocknete Filterrückstand mit etwa 3- bis 5 proc. Salzsäure ausgezogen. Aus der heiss filtrirten, salzsauren Lösung scheidet sich beim Erkalten die neue Substanz krystallinisch aus. Die abfiltrirten Krystalle werden durch zwei- bis dreimaliges Umkrystallisiren aus heissem Wasser unter Zusatz von Thierkohle leicht rein erhalten. Die Ausbeute beträgt etwa 15 Proc. der nach der auf S. 606 mitgetheilten Gleichung berechneten Menge.

So lange das entstandene Product nicht ganz rein ist, löst es sich in Alkalien mit weinrother Färbung und fluorescirt blaugrün. Ist der Körper ganz rein, so ist die alkalische Lösung farblos und hat eine reine, schön blaue Fluorescenz. Die Substanz krystallisirt in schwach gelb gefärbten Nadeln. Sie enthält Krystallwasser, welches sie aber schon an der Luft verliert.

---

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **23**, 147 ff., 537 ff. — Dieser Band S. 571. u. 587.

Die Elementaranalysen des bei 100 bis 110° getrockneten Präparates ergaben Zahlen, welche der Formel $C_{21}H_{18}O_6$ entsprechen.

0.2297 g der Substanz gaben 0.5783 g $CO_2$ und 0.1022 g $H_2O$ oder 68.65 Proc. C und 4.94 Proc. H.

0.2217 g der Substanz gaben 0.5583 g $CO_2$ und 0.0983 g $H_2O$ oder 68.67 Proc. C und 4.92 Proc. H.

| I | II | Die Verbindung $C_{21}H_{18}O_6$ enthält: |
|---|---|---|
| 68.65 Proc. C | 68.67 Proc. C | 68.85 Proc. C |
| 4.94 „ H | 4.92 „ H | 4.91 „ H |
| 26.41 „ O | 26.41 „ O | 26.24 „ O. |

Die Substanz, welche ich wegen ihrer schönen blauen Fluorescenz „Resocyanin" nennen werde, ist in kaltem Wasser nahezu unlöslich, schwer löslich in heissem, ziemlich leicht löslich in Alkohol und wenig löslich in Aether. In Capillarröhrchen schmilzt sie bei 185°. Ihre Lösungen werden durch Eisenchlorid nicht gefärbt.

Kalte alkoholische Lösung des Resocyanins giebt, mit Bromdampf oder Bromwasser im Ueberschusse versetzt, ein krystallinisches Substitutionsproduct, das Resocyaninhexabromid, das, aus Alkohol umkrystallisirt, schwach rosarothe, glänzende Blättchen darstellt. Sie sind in Wasser unlöslich, in Alkohol schwer löslich und schmelzen in Capillarröhrchen bei 250° unter theilweiser Zersetzung. Die lufttrockenen Krystalle verlieren über Schwefelsäure nichts mehr an Gewicht; sie enthalten also kein Krystallwasser.

0.2785 g der Substanz gaben 0.3041 g $CO_2$ und 0.0451 g $H_2O$ oder 29.78 Proc. C und 1.79 Proc. H.

0.2783 g der Substanz gaben 0.3747 g BrAg, entsprechend 57.29 Proc. Br.

| Versuch: | Das Resocyaninhexabromid $= C_{21}H_{12}Br_6O_6$ enthält: |
|---|---|
| 29.78 Proc. C | 30.00 Proc. C |
| 1.79 „ H | 1.43 „ H |
| 57.29 „ Br | 57.14 „ Br |
| | 11.43 „ O. |

Durch Einwirkung von Salpetersäure auf Resocyanin habe ich ein krystallinisches Nitroderivat erhalten, welches ich noch nicht analysirt habe.

Mit dem doppelten Gewichte Essigsäureanhydrid mehrere Stunden am Rückflusskühler gekocht, giebt das Resocyanin ein Diacetylderivat, das beim Erkalten der Lösung in langen, atlasglänzenden, weissen Nadeln sich ausscheidet. Das wiederholt aus Alkohol umkrystallisirte und über Schwefelsäure getrocknete Product ergab folgende Zahlen:

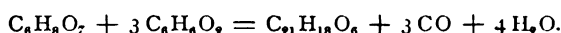
0.2193 g Substanz gaben 0.5354 g $CO_2$ und 0.0975 g $H_2O$ oder 66.58 Proc. C und 4.94 Proc. H.

0.2494 g Substanz gaben 0.6071 g $CO_2$ und 0.1116 g $H_2O$ oder 66.38 Proc. C und 4.97 Proc. H.

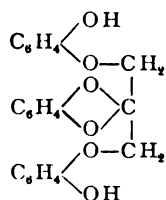
| I | II | Berechnet für $C_{21}H_{16}(C_2H_3O)_2O_6$: |
|---|---|---|
| 66.58 Proc. C | 66.38 Proc. C | 66.66 Proc. C |
| 4.94 „ H | 4.97 „ H | 4.88 „ H. |

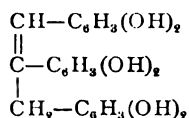
Dieses Acetylderivat schmilzt in Capillarröhrchen bei 150°. In Wasser ist es sehr schwer löslich, ziemlich leicht löslich in Alkohol und in Aether. Von verdünnter Natronlauge in der Kälte wird es nicht gelöst, und erst beim Erwärmen erfolgt die Lösung, jedoch unter Zersetzung.

Betrachtet man nun die Zusammensetzung des Resocyanins und die bei seiner Bildung auftretenden Gase, so unterliegt es kaum einem Zweifel, dass das auftretende Kohlenoxyd von der Citronensäure abgespalten wird, und dass die Reaction hier nach folgender Gleichung geschieht:

$$C_6H_8O_7 + 3\,C_6H_6O_2 = C_{21}H_{18}O_6 + 3\,CO + 4\,H_2O.$$

Das Auftreten von Kohlensäure und schwefliger Säure gehört einer secundären Reaction an, indem ein Theil der Citronensäure zerstört wird, und andererseits das Kohlenoxyd bei der hohen Temperatur mit $SO_3$ sich zu $CO_2$ und $SO_2$ umsetzt.

Zieht man ferner den Umstand in Betracht, dass das Resocyanin nur zwei durch Acetyl ersetzbare Hydroxylwasserstoffe enthält, so ergiebt sich folgende wahrscheinlichste Structurformel des Resocyanins:

```
        ,OH
C6H4<
        `O—CH2
        ,O\   |
C6H4<      >C
        `O/   |
        ,O—CH2
C6H4<
        `OH
```

Die Substanz wäre demnach eine Aetherart, entstanden durch Verbindung von drei Resorcinmolekülen mit Propan ($C_3H_8$), unter Austritt von 4 Mol. Wasser. Eine andere mögliche Structurformel des Resocyanins wäre folgende:

```
CH—C6H3(OH)2
||
C—C6H3(OH)2
|
CH2—C6H3(OH)2
```

Der Umstand aber, dass nur zwei Wasserstoffe des Resocyanins durch Acetyl ersetzbar sind, spricht zu Gunsten der ersten Annahme.

Ich bin mit der weiteren Untersuchung des Resocyanins, sowie in der eingangs angedeuteten Richtung beschäftigt und hoffe, bald weitere Resultate mittheilen zu können.

Bern, Nencki's Laboratorium, im Juni 1881.

# Ueber die Zersetzung des Traubenzuckers und der Harnsäure durch Alkalien bei der Bruttemperatur

von

**M. Nencki** und **N. Sieber.**

Journ. prakt. Chemie **24**, 498.

Die Untersuchungen Radziszewski's[1]): „Ueber die Phosphorescenz der organischen und organisirten Körper" haben zu dem Ergebnisse geführt, dass diese Erscheinung ein langsamer Oxydationsprocess ist, und dass während des Leuchtens, wie überhaupt während jeder langsamen oder stürmischen Oxydation Spaltung der Sauerstoffmoleküle in Atome ($O_2 = O + O$) stattfindet. Als eine, wenigstens für die Phosphorescenz wesentliche Bedingung bezeichnete er sodann die alkalische Reaction der verbrennenden Materie.

Obgleich uns Organismen bekannt sind, wie z. B. Mycoderma vini, Mycoderma aceti und namentlich die Schimmelpilze, welche in relativ stark sauren Nährlösungen gerade sehr intensive Verbrennungen, also ebenfalls Spaltung der Sauerstoffmoleküle in Atome bewirken, so war es doch bei dem unleugbar günstigen Einfluss der alkalischen Reaction für die Oxydation gewisser organischer Substanzen, sowie aus dem Grunde, dass gerade die Gewebe höherer Thiere alkalisch reagiren, von Interesse, das Verhalten der Bestandtheile der thierischen Nahrungsstoffe oder Gewebe gegen verdünnte Alkalien bei der Bruttemperatur und Sauerstoffzutritt zu untersuchen.

In Folgendem wollen wir die Resultate der nach dieser Richtung hin angestellten Versuche mittheilen.

Wir begannen unsere Untersuchungen mit Traubenzucker, den wir uns zu dem Zwecke aus diabetischem Harn in reinem Zustande darstellten[2]). 20 g Dextrose wurden in 200 ccm Wasser gelöst, der Lösung 40 g Kalihydrat zugesetzt und in einem lose mit Watte verschlossenen Kolben auf dem Wasserbade bei 35 bis 40° stehen gelassen. Nach kurzer Zeit bräunte sich die Lösung. Die braune Färbung nimmt in den nächsten Stunden an Intensität noch zu; nach mehrtägigem Stehen wird die Flüssigkeit wieder heller. Nach 24 Stunden ist der Zucker bis auf geringen Rest verschwunden. Die alkalische Flüssigkeit reducirt nur Spuren von Kupferoxyd zu Oxydul. Sie wurde mit verdünnter Schwefelsäure genau neutralisirt, bis zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit Schwefelsäure angesäuert und mit Aether extrahirt. Die Extraction wurde so lange wiederholt, bis in den Aether

[1]) Ann. Chem. Pharm. **203**, 305.

[2]) Wie schon Allihn (Journ. prakt. Chem. [2] **22**, 48) angegeben hat, und wir es bestätigen können, sind die als chemisch reiner Traubenzucker von den renommirteren Fabriken bezogenen Präparate noch sehr mit Dextrin und Maltose vermengt. Es wäre sehr wünschenswerth, dass die käuflichen, mit diesem Prädicate bezeichneten Präparate wirklich solche wären, zumal jetzt die Darstellung chemisch reiner Dextrose nach der Vorschrift von Soxhlet (Journ. prakt. Chem. [2] **21**, 244) eine leichte und ergiebige Operation ist.

nichts mehr überging. Die vereinigten Auszüge hinterliessen nach Verdunsten des Aethers einen sauren syrupösen Rückstand, der, mit Zinkoxydhydrat gekocht, ein krystallinisches Salz lieferte, welches durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser gereinigt und analysirt, sich als das Zinksalz der Gährungsmilchsäure erwies.

0.2741 g der lufttrockenen Substanz verloren, bei 115° getrocknet, 0.0497 g Krystallwasser oder 18.13 Proc.

0.2244 g trockener Substanz gaben 0.075 g Zn oder 26.83 Proc.

0.3015 g Substanz, mit CuO verbrannt, gaben 0.1209 g $H_2O$ und 0.3286 g $CO_2$ also 4.4 Proc. H und 29.72 Proc. C.

Der Zusammensetzung des gährungsmilchsauren Zinks, $(C_3H_5O_3)_2Zn + 3H_2O$, entspricht ein Gewichtsverlust an Krystallwasser von 18.18 Proc. und das krystallwasserfreie Salz enthält 26.75 Proc. Zn, 4.11 Proc. H und 29.63 Proc. C.

Obgleich der Zucker bis auf Spuren zersetzt war, so betrug die Ausbeute an Milchsäure in diesem Versuche nur 41 Proc. von dem Gewichte des angewandten Zuckers. Bei wiederholtem Versuche überzeugten wir uns, dass dabei keine, wenigstens nicht in wägbaren Mengen, mit Wasserdämpfen flüchtige Säure entsteht. Wird noch die geringe Menge brauner amorpher Materien und Verlust abgezogen, so bleibt etwa die Hälfte des Zuckers, welche in anderer Weise zersetzt worden ist. Wird der saure Rückstand, nach vollständiger Extraction der Milchsäure durch Aether, mit Alkohol übergossen, so hinterbleibt der grösste Theil des schwefelsauren Alkalis krystallinisch und in die alkoholische Lösung geht ausser der im Ueberschuss zugesetzten Schwefelsäure noch eine syrupöse, nicht krystallisirende Säure über. Verdunstet man jetzt den Alkoholauszug auf dem Wasserbade bis zur Verjagung des Alkohols und kocht den Rückstand mit Wasser unter Zusatz von kohlensaurem Baryt, so geht in das Filtrat ein lösliches Barytsalz über, welches beim Eindampfen zu einem braunen Firniss eintrocknet und in Alkohol unlöslich ist. Ausser Milchsäure entsteht also hier noch eine zweite, in Aether unlösliche, in Alkohol lösliche Säure, deren Zusammensetzung festzustellen uns aber bis jetzt nicht gelang.

Die Beobachtung, dass durch Einwirkung von Alkalien auf Zucker Gährungsmilchsäure entsteht, ist nicht neu. Hoppe-Seyler[1]) beschreibt, dass, wenn ein Theil Traubenzucker mit dem halben Gewichtstheile Natronlauge von 1.34 spec. Gew. und dem gleichen Volum Wasser auf dem Wasserbade erwärmt wird, bei ungefähr 96° sehr heftige Reaction eintritt, wobei aus dem Zucker Milchsäure, wenig Brenzkatechin und andere schmierige Zersetzungsproducte entstehen. Die Quantität der erhaltenen Milchsäure war nicht gross (10 bis 20 Proc. von dem Gewichte des angewandten Milchzuckers). Kurz darauf theilte Schützenberger[2]) mit, dass durch Erhitzen von Kandiszucker mit Barythydrat auf 150 bis 160° etwa 60 Proc. Milchsäure entstehen. Neu ist dagegen die Beobachtung, dass schon bei der Bruttemperatur und in stark verdünnten Lösungen aus dem Zucker Milchsäure entsteht. Wir haben namentlich mit Rücksicht auf die Milchsäurebildung aus Zucker in lebenden Organismen über die Verdünnung der Lösungen, den relativen Alkaligehalt und

[1]) Ber. **4**, 346.

[2]) Bull. Soc. chim. **25**, 289.

die Natur des zur Bildung der Milchsäure nothwendigen Alkalis Folgendes ermittelt.

Wie schon eingangs angegeben, werden alkalische 10 proc. Zuckerlösungen, wobei das Verhältniss von Zucker zu Alkali wie 1:2 ist, bis auf geringe Mengen von unverändertem Zucker zersetzt, und, wie zu erwarten war, kann bei relativ stärkerem Alkaligehalt die Verdünnung viel grösser sein. 50 g Traubenzucker, in 2.5 Liter Wasser gelöst, wurden durch Zusatz von 250 g Kalihydrat innerhalb 20 Stunden zersetzt. In dem Maasse, als die Verdünnung stärker und der relative Alkaligehalt geringer wird, verläuft die Reaction viel langsamer, aber die Milchsäurebildung findet immer noch statt. Als 9 g Traubenzucker, 9 g Kalihydrat in 3 Liter Wasser gelöst, also nur 0.3 Proc. Lösung, bei 35 bis 40° digerirt wurden, verschwand der Zucker erst am zehnten Tage. In einem anderen Versuche, wo 20 g Zucker, 10 g Kali in einem Liter Wasser gelöst waren, ist der Zucker erst am sechsten Tage verschwunden. In beiden Fällen wurde die Bildung der Gährungsmilchsäure durch Analyse des Zinksalzes constatirt.

Die Einwirkung des Alkalis auf die Dextrose ist in den ersten Stunden am intensivsten und nimmt später bedeutend ab. So enthielt eine Lösung von 10 g Traubenzucker und 20 g Kalihydrat in 200 ccm Wasser nach fünfstündigem Stehen bei der Bruttemperatur nur noch 3.4 g Zucker, mittelst der Fehling'schen Lösung bestimmt. Nach 24 stündigem Stehen 0.77 g, nach 48 Stunden 0.4 g und nach 72 Stunden 0.27 g. Doch war in letzterem Falle die minimale Menge nicht genau bestimmbar. Genau den gleichen Effect wie Kali hat Natronhydrat auf Zucker. Durch kohlensaure Alkalien hingegen, sowie Aetzammoniak, wird bei der Bruttemperatur aus Zucker keine Milchsäure gebildet. Der Alkaligehalt dieser Lösung ist hier ohne jeden Einfluss. Als 5 g Traubenzucker mit 100 ccm 10 proc. Ammoniaks drei Tage lang bei der Bruttemperatur digerirt wurden, erhielten wir keine Spur Milchsäure. 5 g Traubenzucker mit 250 ccm 10 proc. Sodalösung waren nach monatlichem Stehen bei der Bruttemperatur unverändert.

Durchaus anders verhalten sich organische Ammoniumbasen. Durch Digestion von Zucker mit Tetramethylammoniumoxydhydrat, sowie Neurin, in Verdünnungen, wie wir sie oben bei Kalihydrat beschrieben, erhielten wir ebenfalls Milchsäure. Diese beiden Basen sind demnach in ihrer Wirkung den fixen Alkalien gleich. Kreatinin, sowie Guanidin bilden dagegen aus Zucker keine Milchsäure. Aus 1.5 g Traubenzucker mit 1.5 g Kreatinin in 150 ccm Wasser gelöst, wurde nach dreiwöchentlicher Digestion bei Bruttemperatur keine Milchsäure erhalten; desgleichen, als 2 g Zucker mit 2 g Guanidin in 50 ccm Wasser zwei Wochen lang digerirt wurden.

Nach den Untersuchungen Radziszewski's kann bei allen den organischen Verbindungen, welche in alkalischer Lösung phosphoresciren, das fixe Alkali durch Neurin oder eine Ammoniumbase ersetzt werden. Bezüglich der Phosphorescenz haben wir gefunden, dass auch das Guanidin sich ähnlich wie die fixen Alkalien verhält. Lophin leuchtet in alkoholischer Guanidinlösung genau so, wie in alkoholischen Kalilösungen. Dagegen in gesättigten alkoholischen Kreatininlösungen leuchtet Lophin, auch beim Erwärmen, gar nicht. Es können demnach organische Basen,

wie das Guanidin, günstig für die Oxydation sein, ohne in ihrer sonstigen Wirksamkeit den fixen Alkalien gleich zu sein.

Verschieden vom Traubenzucker gegen Alkalien bei der Bruttemperatur ist das Verhalten der Zuckerarten von der Formel $C_{12}H_{22}O_{11}$. Im Allgemeinen sind sie widerstandsfähiger. Während aber Milchzucker und Maltose durch Alkalien stark gebräunt und unter Bildung von Milchsäure zersetzt werden, wird Rohrzucker gar nicht verändert. 10 g Rohrzucker mit 20 g Natronhydrat in 500 ccm Wasser gelöst, sind nach dreiwöchentlichem Stehen bei der Bruttemperatur unverändert geblieben. Dagegen gaben 10 g Milchzucker mit 500 g 5 proc. Kalilösung am vierten Tage bei der Trommer'schen Probe noch kaum merkliche Reduction. Am fünften Tage war der Zucker ganz verschwunden. Die Analyse des hieraus erhaltenen Zinklactates zeigte, dass die Säure Gährungsmilchsäure war. In allen Fällen war die Ausbeute an Milchsäure hier geringer, als wie aus reiner Dextrose. Die nach Fudakowski's Vorschrift bereitete Galactose, mit Alkali digerirt, lieferte uns ebenfalls Gährungsmilchsäure. Mannit und Inosit werden bei der Bruttemperatur durch Alkalien nicht verändert. 2 g Inosit mit 40 ccm 10 proc. Kalihydrat vier Wochen lang digerirt, lieferten keine Milchsäure und das unveränderte Inosit konnte wieder gewonnen werden. Auch Glycerin wird nicht verändert. Fettsäuren, wie Stearinsäure und Oelsäure, mit dem doppelten bis dreifachen Gewichte Alkalihydrat in 10 proc. Lösung zeigten auch nach monatelangem Stehen an der Luft bei der Bruttemperatur keine merkliche Veränderung.

Ebenso sind Weinsäure und Milchsäure nach mehrwöchentlicher Digestion mit Alkali unverändert geblieben.

Proteïnsubstanzen (Caseïn, Gelatine) erleiden durch verdünnte Alkalien — 0.5 bis 1 proc. Lösungen — keine weitgehende Zersetzung. Erst nach tagelanger Digestion bei 40° oder bei Anwendung der drei bis vierfachen Menge von Alkali findet schwache $NH_3$-Entwickelung statt und die Eiweissstoffe gehen in peptonartige Materien über. Bildung von Leucin, Glycocoll und Tyrosin findet dabei nicht statt.

Harnsäure wird durch verdünnte Alkalien bei der Bruttemperatur rasch zersetzt. Es entsteht zunächst Uroxansäure, und bei längerer Digestion die Spaltungsproducte der letzteren: Kohlensäure, Harnstoff und Glyoxalharnstoff. Schliesslich wird nur kohlensaures und oxalsaures Ammon erhalten. 5 g Harnsäure, in 200 ccm 10 proc. Kalilösung gelöst, verschwanden nach fünf Tagen. Ein grosser Ueberschuss an Alkalihydrat beschleunigt die Zersetzung nicht. 25 g Harnsäure und 250 g Kalihydrat wurden in einem Liter Wasser gelöst und bei der Bruttemperatur digerirt. Die Harnsäure ist hier erst nach acht Tagen verschwunden. Auch in stark verdünnten Lösungen wird die Harnsäure in gleicher Weise zersetzt, nur dauert, ähnlich wie bei der Dextrose, der Process längere Zeit. Als 15 g Harnsäure mit 15 g Kalihydrat in 3 Liter Wasser gelöst, bei 35 bis 40° stehen blieb, war die Harnsäure erst nach 13 Tagen verschwunden.

Man kann mit Leichtigkeit auf diese Weise grössere Quantitäten der bekanntlich von Strecker zuerst entdeckten Uroxansäure in kurzer Zeit bereiten. Sobald in einer herausgenommenen Probe durch Salzsäure nur noch wenig Harnsäure mehr ausfällt, wird die alkalische Flüssigkeit mit Essigsäure neutralisirt, von der aus-

geschiedenen Harnsäure abfiltrirt und auf dem Wasserbade bei 30 bis 40° bis zur beginnenden Krystallisation verdunstet. Beim Erkalten scheidet sich die Uroxansäure mit Krystallen des Alkaliacetates vermengt aus. Das letztere Salz kann durch Waschen mit wenig Wasser entfernt werden. Die schon sehr reine Uroxansäure haben wir in das Kalisalz übergeführt und daraus durch Salzsäure die freie Säure in reinem Zustande abgeschieden.

0.2687 g Substanz gaben 0.2675 g $CO_2$ und 0.0970 g $H_2O$ oder 27.15 Proc. C und 4.05 Proc. H.

0.1992 g Substanz gaben 48 ccm N-Gas bei 16° und 702 mm Bar. oder 25.96 Proc. N.

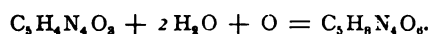
Die Uroxansäure: $C_5H_8N_4O_6$

| | enthält: | Gefunden: |
|---|---|---|
| C | 27.27 Proc. | 27.15 Proc. |
| H | 3.64 „ | 4.05 „ |
| N | 25.44 „ | 25.96 „ |

Aus unseren Versuchen geht hervor, dass, mit Ausnahme von einigen Zuckerarten und Harnsäure, alle anderen Substanzen, mit denen wir experimentirten, nur wenig oder gar nicht verändert wurden; nicht die kohlensauren Alkalien, sondern die Alkalihydroxyde sind es, welche, alsdann allerdings in sehr verdünnten Lösungen, die Spaltungen bewirken. Die Frage, ob in den lebenden Organismen die Milchsäurebildung aus Zucker durch Alkali geschieht, wird natürlich noch lange unentschieden bleiben. Die im Thierkörper vorwiegend vorkommende ist die Paramilchsäure. Wir haben mehr als zwanzig Krystallwasser- und Zinkbestimmungen ausgeführt und bei Anwendung verschiedener Zuckerarten, sowie Verdünnungen, besonders auf die Bildung der Paramilchsäure geachtet. Da das paramilchsaure Zink in Wasser leichter löslich ist, so wurden die zweiten und dritten Krystallisationen aus den Mutterlaugen der ersten Krystallisation des Zinksalzes analysirt. In allen Fällen erhielten wir nur Gährungsmilchsäure.

Der uns widerstrebenden Annahme freier Alkalien in lebenden Geweben kann entgegengehalten werden, dass in den Zellen der Magendrüsen freie Salzsäure gebildet wird. Da die Ammoniumbasen aus Zucker Milchsäure bilden und das Neurin ein Bestandtheil des in allen lebenden Zellen vorkommenden Lecithins ist, so könnte man vermuthen, dass das Neurin an der Milchsäurebildung in lebendigen Organismen betheiligt ist. Auf den Einwand Hoppe-Seiler's[1]), „dass es bis jetzt noch Niemandem geglückt ist, dieses Zersetzungsproduct des Lecithins frei im Organismus aufzufinden“, bemerken wir, dass unseres Wissens die wenigsten Organismen daraufhin untersucht wurden und Resultate der Untersuchungen todter Gewebe nicht maassgebend für die chemischen Processe in lebenden Zellen sein können. — Mineralsäuren, auch in concentrirterer Lösung (10 Proc.), verändern Dextrose bei der Bruttemperatur nicht.

Die Bildung der Uroxansäure aus Harnsäure beruht auf gleichzeitiger Hydratation und Oxydation:

$$C_5H_4N_4O_3 + 2H_2O + O = C_5H_8N_4O_6.$$

[1]) Physiologische Chemie S. 995.

Inwiefern bei der Zersetzung des Traubenzuckers durch Alkalien Oxydationen stattfinden, lässt sich nicht entscheiden, da dabei ausser Milchsäure andere, noch nicht näher charakterisirte Producte entstehen. Unsere Versuche bestätigen die in der Chemie schon häufig gemachte Beobachtung, dass, ob eine organische Verbindung durch den atmosphärischen Sauerstoff oxydirt, resp. der Sauerstoff activ dabei wird, dies vor Allem von der molekularen Structur der betreffenden Verbindung abhängig ist. Für die Oxydationen im Thierkörper sind die Alkalien jedenfalls nicht das Wesentliche. In den lebendigen Zellen müssen organische, stark reducirende Verbindungen gebildet werden, welche, vielleicht unter gleichzeitiger Zersetzung durch Hydratation, sich direct mit dem molekularen Sauerstoff verbinden und ihn dabei in Atome spalten. Eine solche Substanz ist z. B. nach den Untersuchungen Hüfner's[1]) unter den Eiweissstoffen das Fibrin, welches schon durch den atmosphärischen Sauerstoff unter Bildung von Kohlensäure oxydirt wird. Bei unseren Versuchen, wo wir zunächst die Rolle der Alkalien bei den Oxydationen kennen lernen wollten, wurde von den alkalischen Lösungen aus der Luft ausser Sauerstoff auch noch Kohlensäure absorbirt. Wir haben deshalb nicht gleichzeitig auch die Frage entscheiden können, ob in einigen unserer Versuche, wie z. B. mit Dextrose, Fettsäuren, Caseïn und Gelatine, mehr oder weniger atmosphärischer Sauerstoff unter Bildung von Kohlensäure und Wasser verzehrt wurde. Die Beantwortung dieser Frage soll der Gegenstand unserer nächsten Publication werden.

Bern, im September 1881.

---

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **11**, 43.

# 1882

## Ueber zwei neue Derivate des Sulfoharnstoffs

von

**M. Nencki** und **N. Sieber.**

Journ. prakt. Chem. **25**, 72.

Sulfoharnstoff löst sich beim Erwärmen in Acetessigäther allmählich auf. Die Lösung nimmt eine gelbe Färbung an, und wenn das Erwärmen in einem Fractionirkölbchen mit vorgelegtem Kühler ausgeführt wird, so kann man sich leicht überzeugen, dass bei dieser Reaction neben etwas unverändertem Aether und schwefelhaltigen Aethylverbindungen hauptsächlich Alkohol entweicht. Ist der Sulfoharnstoff gelöst, so wird durch Wasserzusatz aus der Schmelze eine neue krystallinische, in Wasser schwer lösliche Substanz gefällt, die, aus heissem Wasser mehrfach umkrystallisirt und analysirt, nach der Formel $C_5H_6ON_2S$ zusammengesetzt ist.

Die lufttrockene Substanz verliert auch bei 150° nichts mehr an Gewicht und ergab folgende Zahlen:

0.3626 g der Substanz gaben 0.5631 g $CO_2$ und 0.1505 g $H_2O$ oder 42.35 Proc. C und 4.61 Proc. H.

0.2960 g der Substanz gaben 0.4564 g $CO_2$ und 0.1251 g $H_2O$ oder 42.08 Proc. C und 4.69 Proc. H.

0.2506 g der Substanz gaben 47.2 ccm feuchtes N-Gas bei 28.5° und 717 mm Bar. oder 19.50 Proc. N.

0.2379 g gaben 44.7 ccm N-Gas bei 25.5° und 713 mm Bar. oder 19.68 Proc. N. Von dem Barometerstande wurde hier die Tension des Wasserdampfes aus 20 proc. Kalilauge, über welcher das Volum des Gases abgelesen wurde, abgezogen.

0.2129 g der Substanz gaben 0.3487 g $SO_4Ba$ oder 22.49 Proc. S.

| Versuch: | | | | Berechnet: | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C | 42.35 und 42.08 Proc. | | | $C_5$ | 42.25 | Proc. | C |
| H | 4.61 „ 4.69 „ | | | $H_6$ | 4.25 | „ | H |
| N | 19.50 „ 19.68 „ | | | $N_2$ | 19.71 | „ | N |
| S | 22.49 Proc. | | | S | 22.53 | „ | |
| | | | | O | 11.26 | „ | |

Wie schon erwähnt, ist die Substanz in Wasser schwer löslich, doch nimmt die Löslichkeit mit der Wärme bedeutend zu, so dass sie sich gut aus heissem Wasser umkrystallisiren lässt. In Alkohol ist sie ebenfalls nur wenig löslich, noch weniger in Aether. Leicht löslich ist sie in Alkalien, woraus sie durch Säuren in unregelmässig gezackten, rhombischen Blättchen gefällt wird. Durch Metalloxyde, Jod u. s. w. wird sie nicht entschwefelt. Den Krystallen scheint eine blassgelbe Farbe eigenthümlich zu sein; sie schmelzen im Capillarröhrchen auch oberhalb 300° nicht. Die heisse, wässerige Lösung der Substanz giebt mit Silbersalpeter einen amorphen gelblichen Niederschlag, der, gut ausgewaschen, zunächst im Exsiccator, sodann im Luftbade bei 110° getrocknet und analysirt, folgende Zahlen ergab:

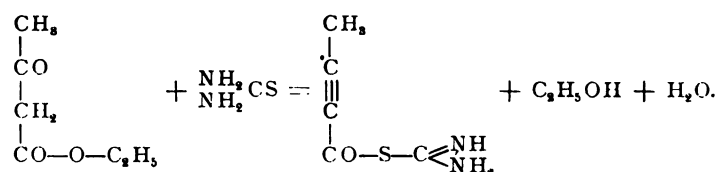
0.4438 g der Substanz gaben 30 ccm N-Gas bei 9.5° und 708 mm Bar. oder 7.74 Proc. N.

0.3087 g der Substanz, mit Salpetersäure und Salzsäure im zugeschmolzenen Rohre erhitzt, gaben 0.249 g AgCl oder 60.34 Proc. Ag. Die von AgCl abfiltrirte Flüssigkeit, mit Chlorbaryumlösung versetzt, gab 0.210 g $SO_4Ba$ oder 9.26 Proc. S.

0.4578 g gaben 0.2837 g $CO_2$ und 0.0637 g $H_2O$ oder 16.90 Proc. C und 1.52 Proc. H.

Aus diesen Zahlen wird folgende Zusammensetzung des Silbersalzes gleich $C_5H_4Ag_2N_2SO$ abgeleitet, welcher Formel 7.85 Proc. N, 60.67 Proc. Ag, 8.98 Proc. S, 16.85 Proc. C und 1.12 Proc. H entsprechen.

Die Bildung dieses Körpers erfolgt offenbar nach folgender Gleichung:

$$\begin{array}{l}CH_3\\ |\\ CO\\ |\\ CH_2\\ |\\ CO{-}O{-}C_2H_5\end{array} + \begin{array}{l}NH_2\\ NH_2\end{array}\!CS = \begin{array}{l}CH_3\\ |\\ C\\ |||\\ C\\ |\\ CO{-}S{-}C\!\begin{array}{l}\lessdot NH\\ \lessdot NH_2\end{array}\end{array} + C_2H_5OH + H_2O.$$

Diese Bildungsgleichung deutet gleichzeitig auch an unsere Ansicht über die molekulare Structur dieser Substanz, wonach sie als Sulfoharnstoff der Methylacetylencarbonsäure: $CH_3—C\equiv C—COOH$, aufzufassen wäre. Gegen die Annahme, dass der Sauerstoff nicht mit den Wasserstoffen des Acetessigäthers, sondern mit denen des Sulfoharnstoffs als Wasser ausgetreten sei, spricht die Zusammensetzung des Silbersalzes. Auch bieten die bis jetzt bekannten substituirten Sulfoharnstoffe keine Analogie dafür. Bei der Einwirkung von Sulfoharnstoff auf Acetessigäther entsteht diese Substanz übrigens nur in geringer Menge. Wir haben am zweckmässigsten gefunden, gleiche Gewichtstheile Sulfoharnstoff und Acetessigäther allmählich auf 150° zu erhitzen, bis der Sulfoharnstoff gelöst wird. Man erhält so aus 40 g Sulfoharnstoff und 40 g Acetessigäther etwa 6 bis 7 g der neuen Verbindung.

### Sulfuvinursäure.

Mit diesem Namen wollen wir eine in mancher Hinsicht interessante Verbindung bezeichnen, welche das Product einer, wie es scheint, zwischen Sulfoharnstoff und zweifach halogensubstituirten Säuren ziemlich allgemeinen Reaction ist.

Erwärmt man auf dem Wasserbade wässerige concentrirte Lösungen von Sulfoharnstoff und Bibrombrenztraubensäure, so findet eine lebhafte Einwirkung der beiden Substanzen auf einander statt. Es scheidet sich Schwefel ab, und aus der warm filtrirten Lösung krystallisirt beim Erkalten die Bromwasserstoffverbindung der Sulfuvinursäure, deren Analysen zu der Formel $C_4H_4N_2SO_2HBr$ führten.

Die Zusammensetzung dieses Salzes, sowie der Umstand, dass, wie die Wägung zeigte, nur die Hälfte des im Schwefelharnstoff angewendeten Schwefels bei der Reaction abgeschieden wurde, belehrten uns sehr bald, dass hier ein Aequivalent der Bibrombrenztraubensäure auf zwei Aequivalente des Sulfoharnstoffs einwirkt, und zwar in zwei auf einander folgenden Phasen. Es entsteht offenbar zunächst unter Abspaltung von Schwefel und Bildung von Bromwasserstoff eine Säure von der Zusammensetzung: $C_3H_2O_3$ nach der Gleichung: $C_3H_2Br_2O_3 + CSN_2H_4 = C_3H_2O_3 + CN_2H_2 + 2(BrH) + S$. In der zweiten Phase verbindet sich dann die Säure $C_3H_2O_3$ mit einem zweiten Molekül Sulfoharnstoff unter Austritt von Wasser: $C_3H_2O_3 + CSN_2H_4 = C_4H_4N_2SO_2 + H_2O$. — Werden in der That auf ein Aequivalent der Bibrombrenztraubensäure zwei Aequivalente Sulfoharnstoff angewendet, und sind die Substanzen rein, so ist die Ausbeute an Sulfuvinursäure nahezu die berechnete. Bei der Darstellung wird zweckmässig, nachdem die Haupteinwirkung stattgefunden hat, von abgeschiedenem Schwefel filtrirt und das Filtrat bis zur beginnenden Krystallisation des bromwasserstoffsauren Salzes auf dem Wasserbade verdunstet. Es scheidet sich hierbei von Neuem etwas Schwefel ab, indem geringe Mengen der unzersetzten Bibromsäure und des Sulfoharnstoffs nachträglich auf einander einwirken.

Durch Umkrystallisiren des bromwasserstoffsauren Salzes aus heisser wässeriger Bromwasserstoffsäure wird zunächst das erstere rein dargestellt, und sodann durch genaue Neutralisation mit Alkali die in Wasser schwer lösliche Sulfuvinursäure abgeschieden. Sie fällt hierbei entweder als gelber krystallinischer Niederschlag oder in Form von amorphen Flocken aus, welche letztere allmählich beim Stehen, rascher beim Umrühren, krystallinisch werden. Oefters aus heissem Wasser umkrystallisirt, kann sie ganz farblos erhalten werden. Aus wässerigen Lösungen scheidet sie sich beim Erkalten in schiefen rhombischen Tafeln oder Nadeln mit zwei Molekülen Krystallwasser aus, das nicht im Exsiccator über Schwefelsäure, sondern erst im Luftbade bei 110° entweicht.

0.9457 g der Substanz, bei 110° getrocknet, verloren 0.1889 g an Gewicht oder 19.94 Proc. Die Formel: $C_4H_4SN_2O_2 + 2H_2O$ verlangt einen Gewichtsverlust an Krystallwasser von 20.0 Proc.

0.2499 g der bei 110° getrockneten Substanz gaben 0.3047 g $CO_2$ und 0.0626 g $H_2O$ oder 33.25 Proc. C und 2.78 Proc. H.

0.3107 g gaben 0.3815 g $CO_2$ und 0.0911 g $H_2O$ oder 33.48 Proc. C und 3.25 Proc. H.

0.2888 g der Substanz gaben 51 ccm N-Gas bei 16° und 717 mm Bar. gleich 0.056275 g N-Gas oder 19.48 Proc.

0.2278 g gaben 0.3649 g $SO_4Ba$ oder 22.0 Proc. S.

| | Versuch: | | Berechnet: |
|---|---|---|---|
| C | 33.25 und 33.48 Proc. | $C_4$ | 33.33 Proc. |
| H | 2.78 „ 3.25 „ | $H_4$ | 2.78 „ |
| N | 19.48 Proc. | $N_2$ | 19.44 „ |
| S | 22.00 „ | S | 22.22 „ |
| | | $O_2$ | 22.22 „ |

Wie schon erwähnt, ist die Sulfuvinursäure in kaltem Wasser schwer löslich, viel leichter in heissem, und wird am besten durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser gereinigt. Die wässerige Lösung reagirt stark sauer. In Alkohol, auch in der Wärme, ist sie nur wenig löslich. Minimale Mengen werden auch von Aether gelöst. In fixen Alkalien und Ammoniak löst sie sich leicht auf und bildet damit leicht lösliche, krystallinische Salze. Charakteristisch ist das Verhalten der Sulfuvinursäure gegen alkalische Kupferoxydlösungen, die schon in der Kälte unter Abscheidung von Kupferoxydul reducirt werden. Bei stärkeren Concentrationen und Erwärmen entsteht an den Wänden des Reagensröhrchens ein metallischer Kupferspiegel. Charakteristisch ist ferner die tief violette Färbung, welche in der wässerigen Lösung der Sulfuvinursäure durch Zusatz von Eisenchloridlösung hervorgerufen wird. Den Entschwefelungsreagentien gegenüber ist sie sehr beständig und wird, auch längere Zeit mit Quecksilberoxyd, Bleioxyd u. s. w. gekocht, nicht verändert. Erst durch längeres Kochen mit concentrirten Lösungen der Alkalien wird die Substanz zersetzt, und auf Zusatz von Säuren entweicht Schwefelwasserstoff.

Obgleich die Sulfuvinursäure gegen Mineralsäuren sich wie eine Base verhält und damit beständige, schön krystallisirende Salze bildet, so ist sie andererseits durch ihr Verhalten gegen Metalle hinreichend als eine Säure charakterisirt. Die Sulfuvinursäure ist einbasisch und ihre Salze nach der allgemeinen Formel $C_4H_3MN_2SO_2$ zusammengesetzt. Wir haben folgende dargestellt und analysirt:

Das Calciumsalz, $(C_4H_3N_2SO_2)_2Ca$, wird erhalten durch Auflösen von kohlensaurem Kalk in heisser wässeriger Lösung der Säure und krystallisirt beim Erkalten des Filtrates in rhombischen Blättchen und Tafeln.

0.3274 g des bei 110° getrockneten Salzes gaben 0.1326 g $SO_4Ca$ oder 11.94 Proc. Ca. Der obigen Formel entsprechen 12.27 Proc. Ca.

Magnesiumsalz, $(C_4H_3N_2SO_2)_2Mg$, erhalten durch Auflösen von gebrannter Magnesia in heisser wässeriger Lösung der Säure, krystallisirt wasserfrei in undeutlichen Blättchen und Schüppchen.

0.225 g des Salzes gaben 0.0783 g $P_2O_7Mg_2$ oder 7.57 Proc. Mg, berechnet 7.74 Proc. Mg.

Zinksalz, $(C_4H_3N_2SO_2)_2Zn$, scheidet sich aus als ein in Wasser sehr schwer löslicher, aus mikroskopischen, concentrisch gruppirten Nadeln bestehender Niederschlag, wenn heisse wässerige Lösungen von essigsaurem Zink und Sulfuvinursäure mit einander vermischt werden. Das Salz enthält kein Krystallwasser.

0.5361 g des Salzes gaben 0.1234 g ZnO oder 18.46 Proc. Zn und 0.251 g der Substanz gaben 36.2 ccm N bei 15.5° und 714 mm Bar. = 0.03967 g N oder 15.80 Proc. Die obige Formel verlangt 18.5 Proc. Zn und 15.95 Proc. N.

Das oben erwähnte bromwasserstoffsaure Salz, $C_4H_4N_2SO_2BrH$, krystallisirt wasserfrei. Wiederholt aus wenig verdünnter Bromwasserstoffsäure umkrystallisirt und über Schwefelsäure getrocknet, lieferte es uns bei der Analyse folgende Zahlen:

0.233 g der Substanz gaben 0.1796 g $CO_2$ und 0.0686 g $H_2O$ oder 21.02 Proc. C und 2.41 Proc. H.

0.2616 g Substanz gaben 29 ccm N bei 15° und 718 mm Bar. oder 12.27 Proc. N.

0.2282 g der Substanz gaben 0.1896 g AgBr oder 35.35 Proc. Br.

0.2416 g der Substanz gaben 0.2527 g $SO_4Br$ oder 14.36 Proc. S.

Der Formel $C_4H_4N_2SO_2BrH$ entsprechen 21.33 Proc. C, 2.22 Proc. H, 12.44 Proc. N, 35.55 Proc. Br und 14.36 Proc. S.

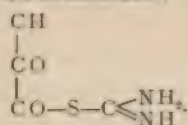
Das salzsaure Salz, durch Auflösen der Sulfuvinursäure in verdünnter Salzsäure und Umkrystallisiren aus heissem Wasser gewonnen, krystallisirt ebenfalls wasserfrei.

0.2856 g der über $SO_4H_2$ getrockneten Substanz gaben 0.2268 g AgCl oder 19.64 Proc. Cl. Die Formel $C_4H_4N_2SO_2$ verlangt 19.66 Proc. Cl.

Das salpetersaure Salz, $C_4H_4N_2SO_2 . NO_3H + H_2O$, krystallisirt in langen weissen Nadeln und ist in Wasser weniger als die beiden vorhergehenden löslich. Das Krystallwasser entweicht erst im Luftbade bei 100°; dabei färbt sich das Salz roth und erleidet theilweise Zersetzung.

0.2299 g der über $SO_4H_2$ getrockneten Substanz gaben 0.181 g $CO_2$ und 0.071 g $H_2O$ oder 21.03 Proc. C und 3.42 Proc. H. Berechnet für $C_4H_4N_2SO_2NO_3H + H_2O$ 21.3 Proc. C und 3.11 Proc. H.

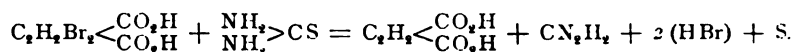
Die Sulfuvinursäure hat die Zusammensetzung der bis jetzt unbekannten Sulfbarbitursäure. Abgesehen von ihrem ganzen Verhalten ergiebt schon ihre Entstehung aus der Bibrombrenztraubensäure, dass sie mit der Sulfbarbitursäure nur isomer sein kann. Berücksichtigt man den Verlauf der Reaction, sowie den Umstand, dass die Sulfuvinursäure sich nicht entschwefeln lässt, so ergiebt sich für die Säure folgende wahrscheinlichste Structurformel:

```
CH
|
CO
|       NH₂
CO—S—C<
        NH
```

Man kann hier die zwei früher mit $Br_2$ verbundenen Affinitäten des Kohlenstoffs entweder als ungesättigt, oder dieses Kohlenstoffatom als zweiwerthig, oder auch als mit dem Schwefelatom — das in diesem Falle vierwerthig wäre — gebunden ansehen. Wir haben die freie Säure CH—CO—COOH darzustellen versucht und zu dem Zwecke 10 g der Sulfuvinursäure mit dem fünffachen Gewichte 30 proc. Kalilösung eine Stunde lang am Rückflusskühler gekocht. Hierauf wurde die Flüssigkeit mit Salzsäure angesäuert, wobei viel Schwefelwasserstoff entwich, auf dem Wasserbade verdunstet und der Rückstand mit Aether extrahirt.

In den Aether ging eine saure Flüssigkeit über, welche nach Abdestilliren des Aethers als ein Syrup hinterblieb, der nicht krystallisiren wollte, sich an der Luft stark bräunte und aus welchem immer von Neuem braune, humusartige Flocken

sich abscheiden. Aus diesem syrupösen Rückstande irgend ein krystallisirbares Salz darzustellen, ist uns nicht gelungen.

Um die Richtigkeit unserer Ansicht über die Bildung und die Structurformel der Sulfuvinursäure zu prüfen, haben wir auch das Verhalten der Bibrombernsteinsäure gegen Sulfoharnstoff in den Kreis unserer Untersuchung gezogen. Wir erwarteten, dass hierbei das Sulfureïd der Fumar- oder Maleïnsäure entstehen werde. Der Versuch zeigte, dass unsere Voraussetzung richtig war, nur bleibt die Reaction auf halbem Wege stehen. Erhitzt man die wässerige Lösung von Sulfoharnstoff und Dibrombernsteinsäure zum Sieden, so wird ebenfalls Schwefel abgeschieden. Gleichzeitig scheidet sich aber in undeutlichen, gelblichen Krystallblättchen ein Körper aus, dessen genauere Untersuchung ergab, dass er Fumarsäure war. Die Reaction zwischen Dibrombernsteinsäure und Sulfoharnstoff verläuft ganz glatt im Sinne folgender Gleichung:

$$C_2H_2Br_2<\begin{matrix}CO_2H\\CO_2H\end{matrix} + \begin{matrix}NH_2\\NH_2\end{matrix}>CS = C_2H_2<\begin{matrix}CO_2H\\CO_2H\end{matrix} + CN_2H_2 + 2(HBr) + S.$$

Die so erhaltene Säure, welche alle Eigenschaften der Fumarsäure hatte, wurde nur einmal aus verdünnter Salpetersäure umkrystallisirt und sodann analysirt.

0.2781 g der Substanz gaben 0.4209 g $CO_2$ und 0.0932 g $H_2O$ oder 41.27 Proc. C und 3.72 Proc. H. Die Formel $C_4H_4O_4$ verlangt 41.38 Proc. C und 3.44 Proc. H.

Diese Zusammensetzung wurde noch durch die Analyse des Silbersalzes bestätigt. Maleïnsäure entsteht hierbei nicht.

Hier, so wie bei der Zersetzung mit Bibrombrenztraubensäure zerfällt nach obiger Gleichung der Sulfoharnstoff in Cyanamid, Wasserstoff und Schwefel. Wir brauchen wohl kaum zu erwähnen, dass in den Laugen unverändertes Cyanamid nicht mehr aufzufinden war, da, wie zu erwarten, durch längeres Kochen in stark saurer Lösung Cyanamid unter Aufnahme von Wasser in Kohlensäure und Ammoniak zerfällt.

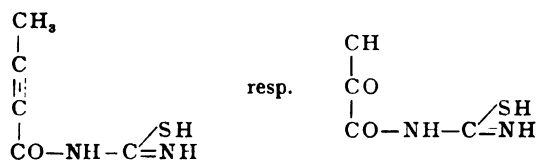
Zum Schluss unserer Mittheilung wollen wir noch eine Bemerkung bezüglich der molekularen Structur unserer Verbindungen, sowie des Sulfoharnstoffs selbst hinzufügen.

Bekanntlich lässt sich Sulfoharnstoff, sowie die substituirten Sulfoharnstoffe mit Alkoholradicalen und auch der Acetylsulfoharnstoff durch Metalloxyde, Jod u. s. w. leicht entschwefeln. Alle diese Entschwefelungsagentien sind den beiden hier beschriebenen Körpern, ähnlich wie dem Sulfhydantoïn von Maly gegenüber, unwirksam. Die Widerstandsfähigkeit des Sulfhydantoïns gegen Entschwefelungsmitttel war auch eine von den Ursachen, welche Liebermann[1]) bewogen, die Formel dieses Körpers nicht als $CS<\begin{matrix}NH-CH_2\\NH-CO\end{matrix}$, sondern als $C\begin{matrix}\diagup\!\!\diagup NH\\ -S-CH_2-CO\\ \diagdown NH\text{———}\diagup\end{matrix}$ aufzufassen. Die Richtigkeit der letzteren Formel wurde dann von Andreasch, nach dessen Beobachtung durch einfaches Eindampfen eines wässerigen Gemisches von Cyanamid und Thioglycolsäure Sulfhydantoïn entsteht, bestätigt. Der Process verläuft hier nach

[1]) Ann. Chem. Pharm. **207**, 132.

der Gleichung $C \begin{smallmatrix} \equiv N \\ \diagdown NH_2 \end{smallmatrix} + HS{-}CH_2{-}CO_2H = C \begin{smallmatrix} \diagup S{-}CH_2{-}CO_2H \\ = NH \\ \diagdown NH_2 \end{smallmatrix}$. Da das Sulfhydantoïn demnach kein entsprechendes Analogon des wahren Hydantoïns: $CO{<}\begin{smallmatrix} NH{-}CH_2 \\ NH{-}CO \end{smallmatrix}$ ist — ob das bekannte Hydantoïn die Zusammensetzung: $CO{<}\begin{smallmatrix} NH{-}CH_2 \\ NH{-}CO \end{smallmatrix}$ hat, lassen wir vorläufig dahingestellt — so wäre es vielleicht zweckmässiger, den Körper von Maly als Isosulfhydantoïn zu bezeichnen. Uebereinstimmend mit der Auffassung Liebermann's haben auch wir in den Structurformeln unserer neuen Verbindungen nur das andeuten wollen, dass der Schwefel nicht mit seinen beiden Affinitäten an Kohlenstoff gebunden ist. Auf Grund bisheriger Erfahrungen halten wir die Anschauung für richtig, dass in allen den substituirten Sulfoharnstoffen, die sich leicht entschwefeln lassen, die Atomgruppe C=S anzunehmen ist. Consequenter Weise betrachten wir auch den Sulfoharnstoff als nach der Formel: $\begin{smallmatrix} H_2N \\ H_2N \end{smallmatrix}{>}C{=}S$ zusammengesetzt, entgegen Rathke[1]), welcher die unsymmetrische Formel $\begin{smallmatrix} NH \\ \| \\ C{-}SH \\ | \\ NH_2 \end{smallmatrix}$ für wahrscheinlicher hält. Die Leichtigkeit, mit welcher aus dem Sulfoharnstoff substituirte Sulfureïde entstehen, die sich nicht entschwefeln lassen, beweist eben nur, dass das Schwefelatom im Molekül des Sulfoharnstoffs sehr leicht verschiebbar ist.

Ob die Atomverschiebung bei der Bildung des Körpers aus Acetessigäther oder Sulfuvinursäure in der Art, wie wir so eben angegeben, oder vielleicht nach dem Schema:

$$\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ C \\ \| \\ C \\ | \\ CO{-}NH{-}C \begin{smallmatrix} \diagup SH \\ = NH \end{smallmatrix} \end{matrix} \quad \text{resp.} \quad \begin{matrix} CH \\ | \\ CO \\ | \\ CO{-}NH{-}C \begin{smallmatrix} \diagup SH \\ = NH \end{smallmatrix} \end{matrix}$$

erfolgt, lässt sich auf Grund unserer bisherigen Kenntnisse nicht entscheiden.

Bern, im December 1881.

[1]) Ber. 14, 1779.

# Ueber eine neue Bildungsweise des Resocyanins

von

**Wilhelm Schmid.**

Journ. prakt. Chem. **25**, 81.

Gelegentlich der Fortsetzung der Untersuchungen über die Verbindungen der ein- und zweibasischen Fettsäuren mit Phenolen [1]) habe ich auch Acetessigäther und Chlorzink auf Resorcin in der Wärme einwirken lassen.

Erhitzt man einen Gewichtstheil Acetessigäther, einen Gewichtstheil Resorcin und zwei Gewichtstheile Chlorzink in einem Kolben auf dem Sandbade, so geräth das Gemisch bei 145 bis 150° in lebhaftes Schäumen. Nach 15- bis 20 minutenlangem Erhitzen auf 150° ist die Reaction bei Anwendung von 20 g Resorcin vollendet, das Schäumen hört vollständig auf. Die Schmelze wird am besten in ziemlich viel heisses Wasser gegossen, dasselbe zum Sieden erhitzt und heiss filtrirt. Aus dem Filtrate erhält man beim Erkalten eine reichliche Krystallisation in Form gelber, in kaltem Wasser schwer löslicher Nadeln. Dieselben werden abfiltrirt, ausgewaschen und durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser gereinigt. So dargestellt erscheint die Substanz in langen, blassgelben Nadeln, welche von Alkalien farblos aufgelöst werden. Die alkalischen Lösungen fluoresciren bei geeigneter Verdünnung schön blau. Die lufttrockene Substanz enthält Krystallwasser, welches sie schon über Schwefelsäure vollständig verliert. Bei der Analyse wurden folgende Zahlen erhalten:

1.8760 g der lufttrockenen Substanz verloren im Exsiccator 0.1690 g $H_2O$ oder 9.01 Proc.

0.2903 g der wasserfreien Substanz gaben 0.7304 g $CO_2$ und 0.1296 g $H_2O$ oder 68.62 Proc. C und 4.96 Proc. H.

Der Schmelzpunkt der krystallwasserfreien Substanz lag bei 185° (uncorrigirt).

Die Zahlen der Analyse, die blaue Fluorescenz der alkalischen Lösung und die Uebereinstimmung des Schmelzpunktes lassen keinen Zweifel übrig, dass die von mir auf obige Weise dargestellte Verbindung identisch ist mit dem kürzlich von Wittenberg [2]) aus Resorcin, Chlorzink und Citronensäure erhaltenen Resocyanin. Das Resocyanin, $C_{21}H_{18}O_6$, enthält:

| | | Gefunden: |
|---|---|---|
| C | 68.85 Proc. | 68.62 Proc. |
| H | 4.91 „ | 4.96 „ |

Die Krystallwasserbestimmung zeigt, dass das lufttrockene Resocyanin zwei Moleküle Wasser enthält. Nach der Formel $C_{21}H_{18}O_6 + 2 H_2O$ wird ein Gewichtsverlust von 8.94 Proc. berechnet; gefunden 9.01 Proc.

---

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **23**, 546. — Dieser Band S. 503.

[2]) Ebendaselbst [2] **24**, 125. — Dieser Band S. 604.

Ich habe ferner durch Zusatz von Brom zu dem in Eisessig gelösten Resocyanin das Hexabromid von Wittenberg erhalten. Mein Product krystallisirte ebenfalls in glänzenden, schwach rosa gefärbten Blättchen, und die Brombestimmung ergab folgende Zahlen:

0.2828 g der Substanz lieferten 0.3800 g AgBr oder 57.17 Proc. Br. Die Formel $C_{21}H_{12}Br_6O_6$ verlangt 57.14 Proc. Br.

Die Ausbeute an Resocyanin aus Resorcin und Acetessigäther ist viel bedeutender als wie aus Resorcin und Citronensäure; auch krystallisirt das Product schon nach einmaligem Umkrystallisiren ziemlich rein aus. Als Nebenproducte bei dieser Reaction habe ich Alkohol, Essigäther, Essigsäure und Kohlensäure nachweisen können. Noch glatter übrigens, als wie mit Chlorzink, erfolgt die Bildung des Resocyanins aus Resorcin und Acetessigäther bei Anwendung von concentrirter Schwefelsäure, und können auf die letztere Weise aus Pyrogallol, Orcin, Naphtol u. s. w. offenbar dem Resocyanin entsprechende, schön krystallisirende Verbindungen erhalten werden, deren Untersuchung im hiesigen Laboratorium im Gange ist.

Bern, Nencki's Laboratorium, im December 1881.

---

Ueber eine neue Synthese des Aurins und die Darstellung von dessen Homologen von W. Schmid. Inaug.-Diss. Bern. — Wir finden es überflüssig, diese Arbeit sogar kurz zu referiren, weil die dort angegebenen Thatsachen auch in anderen Artikeln gedruckt worden sind, und zwar findet sich die Resaurinbeschreibung in der 3. Mittheilung „Ueber die Verbindungen der ein- und zweibasischen Fettsäuren mit Phenolen" (dieser Band S. 593); die Synthesen des Aurins, Kresolaurins und Orcinaurins sind in der vierten Mittheilung derselben Untersuchungen angegeben (siehe unten). H.

# Bemerkungen über zwei chemische Publicationen

von

**M. Nencki.**

Journ. prakt. Chem. **25**, 268.

Den Lesern des Journals für praktische Chemie dürfte es bekannt sein, dass Herr Max Wittenberg[1]) durch Erhitzen von Citronensäure und Resorcin mit concentrirter Schwefelsäure ein krystallisirtes Product von der Zusammensetzung $C_{21}H_{18}O_6$ erhielt, welches er wegen der blauen Fluorescenz seiner alkalischen Lösung mit dem Namen Resocyanin bezeichnete. Kurz darauf veröffentlichte Herr W. Schmid[2]) die Beobachtung, dass durch Erhitzen von Acetessigäther und Resorcin mit Chlorzink oder concentrirter Schwefelsäure ebenfalls Resocyanin gebildet wird.

---

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **24**, 125. — Dieser Band S. 604.

[2]) Ebendaselbst [2] **25**, 81. — Dieser Band S. 620.

In Folge der Lectüre eines Referates in den Berliner Berichten über die Arbeit Wittenberg's fühlte Herr Georg Fraude[1]) das Bedürfniss, „weil er sich schon vor längerer Zeit mit fast der gleichen Reaction beschäftigte“, auch seine Beobachtungen hierüber zu publiciren.

Die ganze Mittheilung von Fraude beschränkt sich auf die Beschreibung des Factums, dass beim Erhitzen von einem Molekül Weinsäure mit zwei Molekülen Resorcin unter Zusatz von 1 Proc. (?) Schwefelsäure auf 165 bis 168° ein Harz resultirt, dessen alkalische Lösungen grün fluoresciren und das durch Brom in einen mit carmoisinrother Farbe in Alkalicarbonaten löslichen Farbstoff verwandelt wird. Bezugnehmend auf die Arbeit Wittenberg's sagt er ferner, dass auch er durch Erhitzen von Resorcin mit Citronensäure und concentrirter Schwefelsäure ein Product erhalten habe, das durch seine blaue Fluorescenz in alkalischer Lösung ausgezeichnet sei. Herr Fraude sagt nichts davon, ob er die Körper krystallinisch und in reinem Zustande erhalten habe. Im Gegentheil, er erklärt „nicht in der Lage zu sein, Mittheilungen über die Zusammensetzung dieser Körper zu machen“, beabsichtigt auch gar nicht, den Gegenstand weiter zu verfolgen, noch Herrn Wittenberg im Verfolg seiner Arbeit in den Weg treten zu wollen. Er giebt sich aber auch nicht die Mühe, die in einem deutschen Journal publicirte Originalarbeit Wittenberg's durchzulesen. Da aber in dem Referat in den Berliner Berichten angegeben ist, dass das reine Resocyanin in Alkalien farblos mit blauer Fluorescenz löslich ist, sein Product aber in Alkalien zwar blau fluorescirte, aber mit rother Farbe sich löste, so ist es ihm bequemer, mit der Phrase: „Es muss dahin gestellt bleiben, ob der von mir aus der Citronensäure erhaltene Farbstoff damit (scl. mit dem Resocyanin) identisch ist“ sich über diese Schwierigkeit hinwegzusetzen. Es würde ihn ja einige Stunden Arbeit kosten, das Product von Wittenberg darzustellen und mit dem seinigen zu vergleichen. Wittenberg[2]) hebt ausdrücklich hervor, dass, so lange das Resocyanin nicht ganz rein ist, es sich in Alkalien mit weinrother Färbung löst und blaugrün fluorescirt. So wenig aber sich Herr Fraude um die Reindarstellung und Feststellung der Zusammensetzung seiner Substanzen kümmert, so schnell weiss er für dieselben einen Namen zu finden, und so sind wir um zwei Namen, nämlich Resorcintartreïn und Resorcincitreïn, reicher geworden, unter denen man sich aber zwei Dinge zu denken hat, für die es eigentlich nur einen unparlamentarischen Namen giebt.

In dem letztausgegebenen Hefte der Berliner Berichte, Jahrgang 1882, S. 555, theilen uns die Herren S. Damm und L. Schreiner mit, dass sie wegen der grossen Aehnlichkeit der Bernsteinsäure mit der Phtalsäure auf Veranlassung des Professors von Marx Untersuchungen über das Verhalten der Bernsteinsäure gegen Phenole bei Gegenwart wasserentziehender Mittel unternommen haben. Wie sie selbst mittheilen, hat in Bezug auf die Bernsteinsäure ihre Untersuchung nicht das gewünschte Resultat geliefert; auch erfuhren sie, allerdings erst während sie mit der Untersuchung des aus Bernsteinsäure und Resorcin entstandenen Productes be-

---

[1]) Ber. **14**, 2558.

[2]) A. a. O. S. 126. — Dieser Band S. 604.

schäftigt waren, dass dasselbe bereits unter dem Namen Malin's Substanz von Baeyer erwähnt wird, jedoch noch nicht näher untersucht zu sein scheint. Sie beschreiben sodann, dass Pyrogallol und Bernsteinsäure bei Gegenwart wasserentziehender Mittel eine krystallinische Verbindung bilden und auch Weinsäure, Citronensäure, Glycerin, Oxamid u. s. w. mit Chlorzink geschmolzen Producte liefern, die sich mit grüner bis blauer Fluorescenz in Alkalien lösen.

Hätten sich diese Herren, resp. ihre Lehrer nur die geringste Mühe gegeben, sich in der chemischen Literatur umzuschauen, so wäre ihnen unmöglich entgangen, dass die meisten ihrer neu darzustellenden Producte bereits bekannt sind. Das Succinylfluoresceïn wurde von N. Sieber und mir [1]) vor mehr als einem Jahre beschrieben, noch früher sogar hat J. Rosicki [2]) aus Isobernsteinsäure und Resorcin das Isosuccineïn dargestellt und analysirt. Ueber die Einwirkung von Glycerin auf Phenole liegen Angaben von Reichl [3]) vor, und das aus Resorcin durch Chlorzink erhaltene Product wird aller Wahrscheinlichkeit nach identisch sein mit der durch Einwirkung von Salzsäure oder Schwefelsäure auf Resorcin entstehenden und von L. Barth und H. Weidel [4]) ausführlich beschriebenen Substanz.

Ich habe gerade diese zwei Publicationen aus den Berliner chemischen Berichten herausgegriffen, weil die in ihnen behandelten Gegenstände mich speciell angehen. Es wäre aber eine leichte Sache, noch weitere „Originalmittheilungen" à la Fraude u. s. w. vorzuführen. Der Grund aber, weshalb ich dies überhaupt thue, ist der, dass ich die Herausgeber resp. Redacteure chemischer Zeitschriften darauf aufmerksam machen möchte, mit welcher Nachlässigkeit und Rücksichtslosigkeit gegen das chemische Publicum manche chemische Arbeit jetzt fabricirt wird. Nach meiner Ansicht wäre es viel richtiger, im Interesse der Wissenschaft und auch der Verfasser selber, wenn solche Mittheilungen ungedruckt blieben.

Bern, im März 1882.

---

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **23**, 153. — Dieser Band S. 575.

[2]) Ber. **13**, 208.

[3]) Ebendaselbst **9**, 1429; Dingler's Journ. **235**, 232.

[4]) Ber. **10**, 1464.

# Ueber die Verbindungen der ein- und zweibasischen Fettsäuren mit Phenolen

von

**M. Nencki.**

## Vierte Mittheilung.

Journ. prakt. Chem. **25**, 273.

In der letzten Mittheilung über diesen Gegenstand[1]) wurde angegeben, dass ähnlich wie durch Erhitzen von Resorcin und Ameisensäure das Resaurin, so durch Erhitzen des Phenols und der Ameisensäure mit Chlorzink eine Substanz von den Eigenschaften des Aurins entsteht. Die mit dem damals erhaltenen Producte ausgeführten Analysen ergaben mit der Formel des Aurins keine scharf stimmenden Zahlen. Ich habe seither gemeinschaftlich mit meinem Assistenten Dr. Wilhelm Schmid diese Untersuchungen fortgesetzt, und sind die erzielten Resultate zum Theil auch in der Doctordissertation des Herrn Schmid veröffentlicht worden.

Wir haben zunächst das Aurin aus Ameisensäure und Phenol in grösserer Menge dargestellt und uns von der Identität desselben mit dem aus Phenol und Oxalsäure durch Erhitzen mit Schwefelsäure erhaltenen Aurin überzeugt. Was die Darstellung betrifft, so haben wir gesehen, dass die zuerst angewandten Verhältnisse ziemlich das günstigste Resultat geben. 10 g Ameisensäure, 30 g Phenol und 40 g Chlorzink werden in einem kleinen Kolben mit eingesenktem Thermometer am Rückflusskühler erhitzt. Es ist gut, die Temperatur der Schmelze nicht über 120° steigen zu lassen und dafür etwas länger, bei Anwendung von 30 g Phenol circa 3 Stunden zu erhitzen. Die Schmelze wird sodann in Wasser gegossen und im Dampfstrome destillirt, wodurch das Aurin von unverändertem Phenol befreit wird. Der Farbstoff hinterbleibt dann in der Retorte als festes grünes, metallisch glänzendes Harz. Nach mehrfachen Versuchen, aus dem Rohproduct reines Aurin darzustellen, hat uns das von Zulkowsky[2]) empfohlene Verfahren zum gewünschten Ziele geführt. Nach seiner Vorschrift wurde das Rohproduct in Natronlauge gelöst und in die Lösung ein Strom von schwefliger Säure so lange eingeleitet, bis die Flüssigkeit vollständig entfärbt war; es wurde hierbei eine ziemliche Menge einer braunen Substanz ausgeschieden. Die hiervon abfiltrirte Flüssigkeit wurde gelinde erwärmt, und mit Salzsäure der Farbstoff in rothen Flocken ausgeschieden. Nachdem dieselben auf einem Filter gesammelt und gut ausgewaschen waren, haben wir die Substanz zum zweiten Male in saurem schwefligsaurem Natron gelöst, wobei nur noch Spuren des braunen Körpers zurückblieben. Die filtrirte Flüssigkeit wurde mit Salzsäure angesäuert und einige Tage in der Kälte stehen gelassen. Nach dieser

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **23**, 546. — Dieser Band S. 593.

[2]) Ann. Chem. Pharm. **194**, 124.

Zeit schied sich der Farbstoff in schönen, rothen Flocken aus; dieselben wurden abfiltrirt, ausgewaschen bis zum Verschwinden der Chlorreaction und schliesslich im Luftbade bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet.

Die Analyse ergab folgende Zahlen:

0.2848 g gaben 0.8160 g $CO_2$ und 0.1372 g $H_2O$ oder 78.13 Proc. C und 5.34 Proc. H.

0.3022 g gaben 0.8679 g $CO_2$ und 0.1404 g $H_2O$ oder 78.33 Proc. C und 5.16 Proc. H.

| Gefunden: | Das Aurin $C_{19}H_{14}O_3$ enthält: |
|---|---|
| 78.13 Proc. und 78.33 Proc. C | 78.62 Proc. C |
| 5.34 „ „ 5.16 „ H | 4.83 „ H |

Diese Resultate, verbunden mit den total gleichen Eigenschaften unseres Präparates mit dem aus Corallin dargestellten Aurin, lassen wohl keinen Zweifel, dass beide identisch sind. Wenn es übrigens noch weiterer Beweise für die Identität bedürfte, so finden sich diese in der Analogie der Ameisensäure-Chlorzinkreaction mit anderen Phenolen. Wie wir aus Phenol und Resorcin das Aurin resp. Resaurin erhielten, so haben wir auf gleiche Weise aus Kresol und Orcin die entsprechenden Farbstoffe dargestellt.

Kresolaurin. Käufliches Kresol wurde wiederholt rectificirt und die bei 200° übergehende, also hauptsächlich aus Parakresol bestehende Fraction zur Darstellung des Farbstoffs verwendet. Man erhitzt 1 Theil Ameisensäure mit 2 Theilen Kresol und 2.5 Theilen Chlorzink in einem Kölbchen auf 105 bis 110° und zwar bei Anwendung von 20 g Kresol circa 4 Stunden. Die Schmelze wurde in Wasser gegossen und durch Destillation im Dampfstrome von unverändertem Kresol befreit. Das nach dem Erkalten hart gewordene Harz zeigt ein schwarzes, wenig glänzendes Aussehen und unterscheidet sich schon dadurch von dem Rohproduct aus Phenol. In Alkalien löst sich dasselbe mit schöner und intensiv rother Farbe, welche einen Stich in das Blaue hat. Zur Reinigung haben wir dieses Rohproduct nun sofort in Natronlauge gelöst, die Lösung durch Zusatz von saurem schwefligsaurem Natron entfärbt, wobei ebenfalls ein brauner Körper ungelöst bleibt und aus dem Filtrat die neue Verbindung durch Salzsäure ausgefällt. Dieselbe scheidet sich in Form schön rother Flocken aus, welche auf einem Filter gesammelt und nochmals in gleicher Weise gereinigt werden. Die gut ausgewaschene und bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknete Substanz wurde analysirt und gab folgende Zahlen:

1. 0.2520 g gaben 0.7337 g $CO_2$ und 0.1380 g $H_2O$ oder 79.40 Proc. C und 6.07 Proc. H.

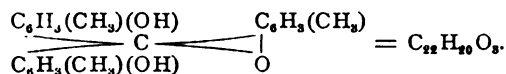
2. 0.2674 g gaben 0.7788 g $CO_2$ und 0.1476 g $H_2O$ oder 79.43 Proc. C und 6.13 Proc. H.

Die aus diesen Zahlen berechnete Formel $C_{22}H_{20}O_3$

| | enthält: | Gefunden: 1. | 2. |
|---|---|---|---|
| C | 79.51 Proc. | 79.40 Proc. | 79.43 Proc. |
| H | 6.02 „ | 6.07 „ | 6.13 „ |

Aus diesen Zahlen geht hervor, dass das aus Kresol und Ameisensäure erhaltene, bis jetzt unbekannte Product homolog dem aus Phenol dargestellten Aurin ist. Wir

bezeichnen dasselbe deshalb als Kresolaurin. Die Structurformel des Kresolaurins ergiebt sich ohne Weiteres aus der des Aurins und ist folgende:

$$\begin{matrix} C_6H_3(CH_3)(OH) \\ C_6H_3(CH_3)(OH) \end{matrix} > C < \begin{matrix} C_6H_3(CH_3) \\ | \\ O \end{matrix} = C_{22}H_{20}O_3.$$

Das auf obige Weise dargestellte Kresolaurin ist ein lebhaft rothes, amorphes Pulver und in seinen Eigenschaften dem Aurin ziemlich ähnlich. Es ist leicht und mit gelber Farbe löslich in Eisessig, weniger in Alkohol und Aether, schwer löslich in verdünnter Essigsäure, absolut unlöslich in Wasser. In den fixen Alkalien löst sich das Kresolaurin leicht mit fuchsinrother Farbe, mit einem Stich ins Blaue. Durch Säuren wird dasselbe aus der alkalischen Lösung in schönen rothen Flocken unverändert abgeschieden. In englischer Schwefelsäure wird das Kresolaurin beim gelinden Erwärmen aufgelöst und durch Wasser unverändert ausgefällt. Mit rauchender Schwefelsäure auf 100° erwärmt, bildet dasselbe eine Sulfonsäure, welche mit Natron und Kali krystallisirende Salze giebt, die in Wasser und Alkohol mit rother Farbe löslich sind.

Durch Zusatz von Brom zu einer Lösung des Kresolaurins in Alkohol und Eisessig entsteht ein Bromproduct, welches durch Wasser als braunes amorphes Pulver abgeschieden werden kann. Dasselbe giebt mit Natron und Kali krystallisirende Verbindungen von grünem Metallglanz, die sich in Alkohol und Wasser mit höchst intensiver, rother Farbe lösen. Der ursprüngliche Farbstoff, sowie auch die Sulfonsäure und das Bromproduct werden durch Erwärmen mit Natronlauge nicht zerstört.

Da die Farbe des Kresolaurins eine hübschere war, als die des Phenolaurins, so war die Möglichkeit vorhanden, dieselbe vielleicht technisch zu verwerthen. Herr Prof. Gnehm, in der Farbenfabrik von Bindschedler und Busch in Basel, hat uns aber über die ihm eingesandten Farbstoffmuster Folgendes mitgetheilt: „Ich bin sehr rasch zur Ueberzeugung gekommen, dass die Farbe in der Form (bezieht sich auf reines Kresolaurin) keine Aussicht auf Verwendung hat. Im Verhalten gegen Fasern gleicht der Farbstoff ausserordentlich dem Corallin: in alkalischem Bade geht er roth auf, in saurem gelb. Die grosse Empfindlichkeit gegen Säuren macht den Farbstoff unbrauchbar. Was die Sulfonsäure und das Bromproduct anbelangt, so stimmt ihr Verhalten gegen Alkalien und Säuren mit den bezüglichen Eigenschaften des ursprünglichen Farbstoffes überein. Die Nuance ist eine andere, mehr bräunliche, jedoch keineswegs so günstige, dass abgesehen von der leichten Veränderlichkeit durch Säuren und Alkalien der Farbstoff eine Concurrenz mit den gebräuchlichen Farbstoffen aushalten könnte."

Orcinaurin. Dieser Körper, dessen Bildung in der letzten Mittheilung erwähnt wurde, entsteht, wenn ein Theil Ameisensäure, ein Theil wasserfreies Orcin und zwei Theile Chlorzink, bei Anwendung von 20 g Orcin, zwei Stunden auf dem Wasserbade erhitzt werden. Die Schmelze wird hierauf in Wasser gegossen, welches das Chlorzink und das unveränderte Orcin auflöst, während das neue Product als amorphes Pulver ungelöst zurückbleibt. Dasselbe wird abfiltrirt, ausgewaschen und getrocknet. Löst man das trockene Pulver in ziemlich viel siedendem Eisessig und

filtrirt heiss, so scheidet sich nach dem Erkalten die neue Verbindung in braunrothen Nadeln aus. Dieselben wurden auf einem Filter gesammelt und durch wiederholtes Umkrystallisiren aus Eisessig gereinigt. So dargestellt erscheint die Substanz in braunrothen Nadeln, welche lufttrocken noch Essigsäure enthalten, die sie jedoch im Exsiccator über Natronkalk ziemlich rasch verlieren. Die zuletzt über Schwefelsäure getrocknete Verbindung verlor im Luftbade bei 100° nichts mehr an Gewicht; die Analyse derselben ergab folgende Zahlen:

1. 0.2144 g gaben 0.5718 g $CO_2$ und 0.1010 g $H_2O$ oder 72.71 Proc. C und 5.22 Proc. H.

2. 0.2015 g gaben 0.5379 g $CO_2$ und 0.0927 g $H_2O$ oder 72.80 Proc. C und 5.11 Proc. H.

Die aus diesen Zahlen berechnete Formel $C_{22}H_{18}O_5$

| | ergiebt: | Gefunden: 1. | 2. |
|---|---|---|---|
| C | 72.92 Proc. | 72.71 Proc. | 72.80 Proc. |
| H | 4.9 „ | 5.22 „ | 5.11 „ |

Würde die Verbindung ganz dem Resaurin entsprechen, wie das Kresolaurin dem Phenolaurin, so müsste dieselbe die Zusammensetzung $C_{22}H_{20}O_6$ haben. Wie man sieht, unterscheidet sich die aus den analytischen Belegen berechnete Formel $C_{22}H_{18}O_5$ von obiger einzig und allein durch ein Minus von einem Molekül Wasser. Es tritt demnach bei der Bildung der Substanz aus Orcin, Ameisensäure und Chlorzink, die wir der Analogie halber mit „Orcinaurin" bezeichnen wollen, noch ein Molekül Wasser aus; man kann sich demnach die Constitution des Orcinaurins in folgender Weise veranschaulichen:

```
              C6H2(CH3)OH                                      C6H2(CH3)OH
             /          \                                     /          \
HO  O—C                  O        oder auch     HO  O—C                   CH2
    \ |  /\             /                            \ |  /\             /
(CH3)C6H2   C6H2(CH3)OH                         (CH3)C6H2    C6H2
                                                                 \\(OH)2
```

je nachdem man sich das Wasser als aus zwei Hydroxylgruppen oder aus einer Hydroxyl- und einer Methylgruppe ausgetreten denkt. Das Orcinaurin löst sich leicht mit braungelber Farbe in Aether, Alkohol und Eisessig, es ist unlöslich in Wasser. Seine Eigenschaften sind überhaupt sehr ähnlich denen des Resaurins. Wie letzteres, so löst sich auch das Orcinaurin mit braunrother Farbe in Alkalien und wird durch Zusatz von Säuren als amorphes Pulver wieder ausgefällt. Mit englischer Schwefelsäure erwärmt, löst es sich auf und wird durch Wasser unverändert abgeschieden; mit rauchender Schwefelsäure erhitzt, bildet es eine Sulfonsäure. Erwärmt man ein Gemisch von Orcinaurin, Essigsäureanhydrid und wasserfreiem, essigsaurem Natron so lange in einem Kölbchen mit Rückflusskühler, bis das Orcinaurin vollständig gelöst ist, so erhält man ein Acetylderivat des Orcinaurins. Durch gelindes Erwärmen mit absolutem Alkohol wird vorerst das unveränderte Essigsäureanhydrid zerstört, aus der alkoholischen Lösung erhält man nach dem Verdunsten des Lösungsmittels das Acetylderivat in Form eines blassrothen amorphen Pulvers, welches, über Schwefelsäure bis zu constantem Gewicht getrocknet, folgende Zahlen gab:

0.1710 g gaben 0.4365 g $CO_2$ und 0.0806 g $H_2O$ oder 69.59 Proc. C und 5.20 Proc. H.

Hieraus berechnet sich die Formel eines Monoacetylderivates des Orcinaurins von der Zusammensetzung:

$$C_{22}H_{17}O_5(C_2H_3O).$$

| Dasselbe enthält: | | Gefunden: |
|---|---|---|
| C | 69.56 Proc. | 69.59 Proc. |
| H | 4.83 „ | 5.20 „ |

Das Monoacetylorcinaurin ist unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol und Aether. Es ist uns nicht gelungen, dasselbe krystallinisch zu erhalten.

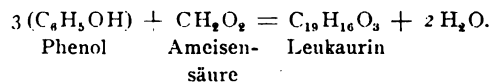
Wir haben auch versucht, aus dem Resaurin ein Acetylderivat darzustellen. Zu dem Zwecke wurde vollkommen trockenes und reines Resaurin mit Essigsäureanhydrid und wasserfreiem, essigsaurem Natron längere Zeit am Rückflusskühler gekocht, bis alles Resaurin gelöst war. Als sich beim Erkalten nichts abgeschieden hatte, wurde die Schmelze zur Zerstörung des unveränderten Essigsäureanhydrids mit absolutem Alkohol gelinde erwärmt, schliesslich zum Sieden erhitzt und filtrirt. Aus der erkalteten alkoholischen Lösung schied sich nach einiger Zeit ein hell ziegelrothes Pulver aus, welches noch einmal aus absolutem Alkohol umkrystallisirt und über Schwefelsäure bis zum constanten Gewicht getrocknet wurde. Die Analyse des so erhaltenen Präparates ergab folgende Zahlen:

0.2322 g gaben 0.5743 g $CO_2$ und 0.0934 g $H_2O$ oder 67.44 Proc. C und 4.47 Proc. H.

Es war somit unverändertes Resaurin (enthält 67.43 Proc. C und 4.16 Proc. H). Auch mit Benzoylchlorid gelang es uns nicht, eine gut charakterisirte Verbindung des Resaurins zu erhalten.

Die Ausbeute an Aurin und dessen Homologen ist je nach der Natur des Phenols verschieden. Am glattesten verläuft die Ameisensäure-Chlorzinkreaction mit Resorcin; schon geringer ist die Ausbeute an Orcinaurin. Aus Phenol und Kresol erhielten wir etwa 20 Proc. der berechneten Menge. Auch ist es vortheilhafter, in kleinem Maassstabe zu operiren, da bei Anwendung grösserer Mengen das Erhitzen längere Zeit fortgesetzt werden muss, wodurch mehr Producte entstehen und die Ausbeute an reinem Farbstoff sich verringert. Wie das Aurin, so werden auch das Resaurin, Orcinaurin und Kresolaurin durch Reductionsmittel in die entsprechenden Leukoverbindungen übergeführt.

Die Entstehung des Aurins und seiner Homologen, beim Erhitzen der Phenole mit Ameisensäure und Chlorzink, erfolgt jedenfalls nach folgender Gleichung:

$$\underset{\text{Phenol}}{3(C_6H_5OH)} + \underset{\text{Ameisensäure}}{CH_2O_2} = \underset{\text{Leukaurin}}{C_{19}H_{16}O_3} + 2\,H_2O.$$

Das in erster Instanz entstandene Leukaurin wird aber sofort zu Aurin oxydirt.

Diese Synthese des Aurins und dessen Homologen ist demnach die directeste Bestätigung der, namentlich durch die Arbeiten von E. und O. Fischer ziemlich allgemein angenommenen Ansicht, dass, einerseits das Aurin, andererseits das Pararosanilin Hydroxyl- resp. Amidoderivate des Triphenylmethans sind. Das Verhalten

der Ameisensäure gegen Phenole beim Erhitzen mit Chlorzink ist analog dem Verhalten dieser Säure beim Erhitzen mit Anilin oder Guanidin. Weith[1]) zeigte, dass das Hoffmann'sche Methenyldiphenyldiamin schon beim blossen Erhitzen von Ameisensäure und Anilin sich bildet, welche Beobachtung ihn auch zur richtigen Interpretation der Entstehung der Guanamine führte. Das oben Gesagte wird durch folgende Gleichungen veranschaulicht:

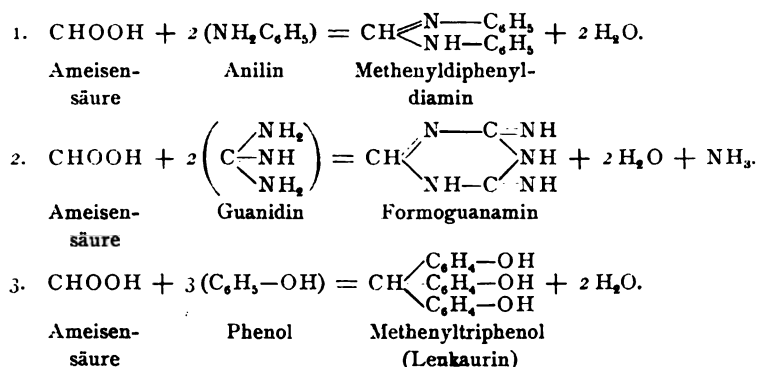
1. $CHOOH + 2(NH_2C_6H_5) = CH\begin{matrix}\nearrow N - C_6H_5 \\ \searrow NH - C_6H_5\end{matrix} + 2H_2O.$

Ameisensäure — Anilin — Methenyldiphenyldiamin

2. $CHOOH + 2\left(C\begin{matrix} \diagup NH_2 \\ = NH \\ \diagdown NH_2\end{matrix}\right) = CH\begin{matrix}\diagup N - C = NH \\ \quad\quad\quad\quad\; NH \\ \diagdown NH - C = NH\end{matrix} + 2H_2O + NH_3.$

Ameisensäure — Guanidin — Formoguanamin

3. $CHOOH + 3(C_6H_5-OH) = CH\begin{matrix}\diagup C_6H_4-OH \\ - C_6H_4-OH \\ \diagdown C_6H_4-OH\end{matrix} + 2H_2O.$

Ameisensäure — Phenol — Methenyltriphenol (Lenkaurin)

Aus der Ameisensäure wird also durch Erhitzen ihres Anilin- resp. Guanidinsalzes oder durch Erhitzen der Säure mit Phenolen und wasserentziehenden Mitteln sehr leicht der dreiwerthige Rest CH abgespalten und so erklärt es sich, weshalb Ameisensäure, mit Phenolen und Chlorzink erhitzt, sofort die entsprechenden Aurine bildet. Es ist übrigens möglich, ja sogar wahrscheinlich, dass ähnlich wie aus Essigsäure und Resorcin zuerst das Resacetophenon gebildet wird, welches letztere erst durch weitere Condensation in die Farbstoffe — das Resaceteïn und das Acetfluoresceïn — übergeht, so auch aus Ameisensäure und Resorcin zuerst das Formylketon $= C_6H_3(OH)_2COH$ entsteht, welches aber, wie man sieht, nichts anderes als Resorcylaldehyd ist. Dieser letztere Aldehyd verbindet sich dann sofort mit zwei anderen Resorcinmolekülen unter Austritt von $H_2O$ zu Leukoresaurin. Von diesem Gesichtspunkte aus reiht sich die Synthese der Aurine aus Ameisensäure und Phenolen an die zahlreichen aus Benzaldehyd, resp. Benzotrichlorid und Phenolen oder aromatischen Aminen, namentlich von Doebner dargestellten Verbindungen an und ich bin der Ansicht, dass aus aromatischen Oxyaldehyden und Phenolen eine ganze Reihe homologer und isomerer Aurine sich darstellen lassen wird. Salicyl- oder Paroxybenzaldehyd, mit Phenol oder Kresol und Chlorzink oder auch conc. $SO_4H_2$ erhitzt, gehen in Farbstoffe über, welche die grösste Aehnlichkeit mit dem Aurin resp. Kresolaurin haben. Genauere Angaben hierüber muss ich jedoch für eine spätere Mittheilung vorbehalten.

Seit der Entdeckung von Kolbe und Schmitt, sowie Persoz, dass beim Erhitzen von Phenol und Oxalsäure mit Schwefelsäure Corallin entsteht, wurden verschiedene Hypothesen über den Verlauf des Processes aufgestellt. Dale und Schorlemmer[2]), welche zeigten, dass das Corallin ein Gemisch verschiedener

[1]) Ber. **9**, 457.

[2]) Ann. Chem. Pharm. **196**, 79.

krystallisirbarer Verbindungen sei, deren Hauptbestandtheil das Aurin ist, suchten die Bildung des letzteren aus Phenol, Oxalsäure und Schwefelsäure durch folgende Gleichung zu erklären:

$$\underset{\text{Oxalsäure}}{C_2H_2O_4} + \underset{\text{Phenol}}{3\,C_6H_6O} = \underset{\text{Aurin}}{C_{19}H_{14}O_3} + \underset{\text{Ameisensäure}}{CH_2O_2} + 2\,H_2O$$

Aus unserer Untersuchung geht dagegen hervor, dass vielmehr auch beim Oxalsäureprocess aus der nascirenden Ameisensäure und Phenol Aurin entsteht. Ich halte ferner für wahrscheinlich, dass bei der Aurindarstellung mittelst Oxalsäure und Schwefelsäure Nebenproducte entstehen, homolog denen, welche Gukassiantz und Claus durch Erhitzen von Resorcin und Oxalsäure erhalten haben.

Eigenthümlich ist bei der Condensation mittelst Chlorzink das Eingreifen der Säurereste in den Benzolkern. Ich habe im Laufe dieser Untersuchungen statt Chlorzink ein anderes wasserentziehendes Mittel, nämlich Phosphoroxychlorid, angewandt und gesehen, dass auch mittelst dieses Körpers Phenole mit ein- und mehrbasischen Säuren unter Wasseraustritt sich vereinigen. Der Säurerest verbindet sich aber im Allgemeinen stets mit dem hydroxylischen Sauerstoff, so dass nicht Ketone, sondern Säureäther der Phenole entstehen. Man kann auf diese Weise aus Essigsäure, Benzoësäure, Oxalsäure, Bernsteinsäure u. s. w. durch Erhitzen mit den entsprechenden Phenolen und Phosphoroxychlorid mit Leichtigkeit die entsprechenden Aether darstellen, zumal die Reaction in vielen Fällen ganz quantitativ verläuft. Nur beim längeren Erhitzen, wo wahrscheinlich die entstandene Phosphorsäure mit in Reaction tritt, bilden sich Ketone, sowie durch weitere Condensation der letzteren Farbstoffe. Herr Rasiński aus Warschau hat die genauere Verfolgung dieser Reaction übernommen und wird in kurzer Zeit seine Beobachtungen hierüber veröffentlichen. Ich will mich deshalb nur auf die Beschreibung der Einwirkung des Phosphoroxychlorids auf Phenol und Oxalsäure, wobei ich Anfangs die Bildung von Aurin erwartete, beschränken.

Wird ein Theil Phenol, ein Theil trockene Oxalsäure und ein Theil Phosphoroxychlorid in einem Kolben auf 115° erwärmt, so findet eine lebhafte Reaction statt, die Masse schäumt stark und es entweicht viel Salzsäure. Nach längerem Erhitzen, während dessen die Temperatur bis auf 135° gesteigert wird, hört das Schäumen vollständig auf, und wenn auf erneuten Zusatz von Oxychlorid das Schäumen nicht mehr eintritt, wird die Schmelze in kaltes Wasser gegossen, wodurch das neue Product als gelbe krystallinische Masse ausfällt. Das Rohproduct, welches stets Spuren eines dem Aurin ähnlichen Farbstoffes enthält, wird abfiltrirt, mit kaltem Wasser gewaschen und auf Fliesspapier getrocknet. Durch Umkrystallisiren der neuen Verbindung aus absolutem Alkohol erhält man sie in schönen, farblosen Prismen, welche lufttrocken im Exsiccator über Schwefelsäure nichts mehr an Gewicht verlieren. Ihre Elementaranalysen ergaben folgende Zahlen:

0.2670 g der Substanz gaben 0.6795 g $CO_2$ und 0.1054 g $H_2O$ oder 69.40 Proc. C und 4.34 Proc. H.

0.2486 g der Substanz gaben 0.6366 g $CO_2$ und 0.1040 g $H_2O$, entsprechend 69.83 Proc. C und 4.65 Proc. H.

Die aus diesen Zahlen berechnete Verbindung: $C_{14}H_{10}O_4$

| | enthält: | Gefunden: 1. | 2. |
|---|---|---|---|
| C | 69.42 Proc. | 69.83 Proc. | 69.40 Proc. |
| H | 4.13 „ | 4.65 „ | 4.34 „ |

Der Körper ist unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol, woraus er durch Wasserzusatz krystallinisch abgeschieden wird, sehr wenig löslich in Aether. Im Capillarröhrchen schmilzt er bei 130°, jedoch unter theilweiser Zersetzung. Durch längeres Kochen schon mit Wasser allein, viel leichter durch Kochen mit wässerigen Mineralsäuren oder Alkalien wird er zersetzt. Um die Spaltungsproducte näher zu charakterisiren, haben wir 2 g der Substanz mit 1 g Kalihydrat und 50 ccm Wasser eine halbe Stunde lang am Rückflusskühler gekocht. Nach dem Erkalten wurde die Flüssigkeit mit Salzsäure übersättigt und destillirt. In dem stark nach Phenol riechenden Destillate konnten durch die Reactionen mit Eisenchlorid und Bromwasser das Phenol und im Retortenrückstande die Oxalsäure durch essigsaures Calcium leicht nachgewiesen werden. Wird der Körper mit conc. Salpetersäure erwärmt, bis keine rothen Dämpfe mehr entweichen, so wird er in Pikrinsäure verwandelt, welche durch die Schmelzpunktbestimmung und Cyankaliumreaction identificirt wurde.

Durch die Zahlen der Analyse, sowie durch das ganze Verhalten ist also diese Substanz hinreichend als neutraler Phenoläther der Oxalsäure $= \begin{matrix} CO-OC_6H_5 \\ | \\ CO-OC_6H_5 \end{matrix}$ $= C_{14}H_{10}O_4$ gekennzeichnet.

Bern, im März 1882.

---

# Ueber die Zulässigkeit gegypster Weine

von

## M. Nencki.

Journ. prakt. Chem. 25, 284.

Durch eine Verordnung der Regierung des Cantons Bern, betreffend die Untersuchung geistiger Getränke vom 10. September 1879, wurde bestimmt, dass die Klärung mittelst Gyps (Platriren) dem Weine nur einen Gehalt von höchstens 2 g schwefelsauren Kalis per Liter zuführen dürfe. Diese Vorschrift ist vielfach von Weinhändlern und anderen Interessenten als eine zu rigorose und den Weinhandel schädigende angefochten worden. Durch Grossrathsbeschluss wurde dann die Direction des Innern des Cantons aufgefordert zur Ausarbeitung eines Entwurfes zu einem Gesetze, betreffend Lebensmittelpolizei und öffentliche Gesundheitspflege.

Da dabei auch die Revision der oben erwähnten Verordnung in Betracht kam, so hat die Direction des Innern die Herren Dr. Lichtheim, Professor der inneren Medicin, Dr. Luchsinger, Professor der Pharmakologie, und mich beauftragt, folgende Fragen zu beantworten:

1. Sind Weine, welche über 2 g schwefelsaures Kali per Liter enthalten, bei längerem oder kürzerem Gebrauche als der Gesundheit nachtheilig zu betrachten?

2. Ist es überhaupt angezeigt, bei Aufstellung neuer gesetzlicher Vorschriften einen Maximalgehalt an schwefelsaurem Kali per Liter Wein festzusetzen und eventuell welchen?

3. Ist die Einwirkung des Genusses platrirter Weissweine (Marsala, Palermo und andere) auf den Organismus eine verschiedene, vielleicht intensivere, von derjenigen, welche platrirte Rothweine verursachen?

Wir veröffentlichen hiermit unseren Bericht in der Voraussetzung, dass auch für andere Fachgenossen derselbe von Interesse sein könnte.

## Ueber die Zulässigkeit gegypster Weine.

Die von der Direction des Innern an uns gestellten Fragen sind in Frankreich nahezu seit 40 Jahren Gegenstand lebhafter Discussionen und einer Anzahl von Gutachten an die Behörden gewesen. Die Ansichten, ob das Gypsen der Weine irgendwie gesundheitsschädlich, resp. der Verkauf gegypster Weine von Staatswegen zu verbieten sei, sind bis auf den heutigen Tag auseinandergehend, wenn auch bei der Durchsicht der hierauf bezüglichen Literatur nicht zu verkennen ist, dass in der letzten Zeit die Meinungen eher dem Gypsen ungünstig sind [1]).

Die Weine Spaniens, Italiens und Südfrankreichs sind es, welche gegypst werden. Das Versetzen des Mostes, seltener fertigen Weines mit Gyps war in einzelnen Departements Südfrankreichs von jeher üblich und diese Praxis wurde viel allgemeiner, als im Jahre 1839 ein Herr Sévane sich als Inhaber eines Patentes einer neuen Methode der Weinbereitung ankündigte, welche nichts Anderes als Versetzen des Mostes mit Gyps war. Diese Methode sollte nach ihm folgende Vorzüge darbieten:

1. beträchtliche Vermehrung des Ernteertrages;
2. grössere Lebhaftigkeit der Weinfarbe;
3. höheren Alkoholgehalt und dadurch grössere Haltbarkeit;
4. Abscheidung der Hefe und vollkommene Klarheit des Weines, wodurch Krankheiten desselben, wie namentlich Nachgährungen, verhütet werden.

Es ist namentlich dieser letzte Punkt — das rasche Klären des Weines, wodurch er früher verkäuflich wird — was dem Gypsen grosse Verbreitung verschaffte. Es sind Rothweine und zwar geringere Sorten, welche gegypst werden. Das Verfahren ist folgendes: die Trauben werden gleichmässig oder schichtenweise mit Gyps vermischt. Beim Zerstampfen der Beeren kommt der Saft mit dem Gyps in directe Berührung. Der übliche Zusatz beträgt 1 bis 2 kg Gyps für 100 kg Trauben. Nach Girard [2]), zur Zeit Directeur du laboratoire municipal de chimie de la ville de Paris,

[1]) Vergl. namentlich hierüber: Chevalier, Du plâtrage des vins, Annales d'Hygiène publique II, **10**, 79 et 290 und Rapport sur les vins plâtrés (août 1862) rapporteur Bussy Recueil des traveaux du comité consultatif d'Hygiène publique de France II, 1873.

[2]) Annales d'Hygiène publique 1881, III, **6**, 5.

wird gegenwärtig diese Menge bedeutend überschritten, so dass gewisse Producenten je 100 Gewichtstheile Trauben mit 9 bis 10 Gewichtstheilen Gyps versetzen.

Seltener wird der bereits vergohrene Wein mit Gyps geschüttelt und nach dem Absetzen der klare Wein abgezogen.

Es ist klar, dass, um die Frage zu beantworten, ob gegypster Wein gesundheitsschädlich sei oder nicht, vor Allem festgestellt werden musste, welche Veränderungen der Wein durch diese Operation erleidet. Die umfassendsten und gründlichsten Untersuchungen hierüber wurden im Jahre 1857 von einer ad hoc von dem Kriegsministerium Frankreichs bestellten Commission, bestehend aus den Herren Thizeaux, Langlois, Tripier und Poggiale[1]) ausgeführt. Indem wir hier die von dieser Commission gezogenen Schlussfolgerungen mittheilen, wollen wir noch hervorheben, dass sowohl die früheren, als auch die späteren Untersuchungen über diese Frage im Wesentlichen das Gleiche ergeben haben.

Die Commission gelangte zu folgenden Resultaten:

1. Gegypste Weine lassen sich von ungegypsten durch den Geschmack im Allgemeinen nicht unterscheiden.

2. Das Gypsen vermindert die Intensität der Weinfarbe.

3. Das saure, weinsaure Kali, ein für den Wein charakteristisches Salz, wird durch den Gyps zersetzt. Die Schwefelsäure des schwefelsauren Kalks bildet mit dem Kali des Weinsteins schwefelsaures Kali, das im Wein gelöst bleibt, während die Weinsäure sich zum grössten Theile als weinsaurer Kalk absetzt. Es ist so begreiflich, dass durch die mehr oder weniger vollständige Entfernung der Weinsäure und Ersatz derselben durch Schwefelsäure die Asche gegypster Weine kein kohlensaures Kali enthält, wie dies bei der Asche nicht gegypster Weine der Fall ist. In Folge des Gypsens wird in der Asche das kohlensaure durch die entsprechende Menge schwefelsauren Kalis ersetzt.

4. Auch das phosphorsaure Kali, ein ebenfalls natürliches Salz des Weines, wird durch das Gypsen zersetzt. Es entsteht schwefelsaures Kali, während die Phosphorsäure als unlösliches Kalksalz zurückbleibt.

5. Dass die Menge der Kalksalze, welche in natürlichen Weinen gering ist, durch das Gypsen mehr oder weniger erhöht wird.

6. Dass also das Gypsen tief die Natur der Weine verändert; nicht allein dadurch, dass Kalksalze in den Wein in mehr oder weniger beträchtlichen Mengen eingeführt und auch die Magnesiumsalze vermehrt werden, aber vor allem dadurch, dass das saure, weinsaure Kali des Weines durch schwefelsaures Kali ersetzt wird.

Um die Veränderung in den Aschenbestandtheilen zu illustriren, theilen wir hier die Aschebestimmungen der nicht gegypsten und gegypsten Weine aus dem Berichte Poggiale's mit.

Es enthielten im Liter:

---

[1]) Annales d'Hygiène publique II, **10**, 305.

Vins de Montpellier.

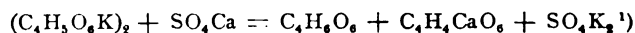
| | Nicht gegypst | Gegypst |
|---|---|---|
| Schwefelsaures Kali | 0.395 g | 2.996 g |
| Schwefelsaurer Kalk | — „ | 0.235 „ |
| Kohlensaures Kali | 1.869 „ | — |
| Phosphorsaurer Kalk<br>Phosphorsaure Magnesia<br>Thonerde<br>Eisenoxyd | 0.525 „ | 0.995 „ |
| Kieselsäure | 0.035 „ | 0.055 „ |
| Kalk | 0.082 „ | 0.142 „ |
| Magnesia | 0.066 „ | 0.057 „ |
| Phosphorsaures Kali | Merkl. Menge | — |
| Chloride | Spuren | Merkl. Menge |
| | 2.972 g | 4.480 g |

Vins des Pyrénées orientales.

| | Nicht gegypst | Gegypst |
|---|---|---|
| Schwefelsaures Kali | 0.367 g | 7.388 g |
| Kohlensaures Kali | 1.363 „ | — |
| Schwefelsaurer Kalk | — | 0.365 „ |
| Phosphorsaurer Kalk<br>Phosphorsaure Magnesia<br>Thonerde | 0.595 „ | — |
| Kieselsäure und Eisenoxyd | 0.065 „ | 0.085 „ |
| Kalk | 0.097 „ | 0.334 „ |
| Magnesia | 0.135 „ | 0.512 „ |
| Chloride | Spuren | Merkl. Spuren |
| | 2.622 g | 10.104 g |

Die Volumprocente an Alkohol betrugen in nicht gegypstem Weine 13 Proc., in gegypstem Weine 16 Proc.

Während diese, sowie alle anderen über das Gypsen angestellten Untersuchungen das Verschwinden des sauren, weinsauren Kalis und dafür das Auftreten des schwefelsauren Kalis constatiren, sind die Ansichten, in welcher Form das Kaliumsulfat — ob als neutrales Salz = $SO_4K_2$, oder als saures, $SO_4HK$ — in den gegypsten Weinen enthalten sei, nicht übereinstimmend. So nahmen die Herren Rousse, Jannicot und Thirault an, welcher Ansicht auch Professor Glénard in Lyon beistimmte, dass die Umsetzung der Salze beim Gypsen nach folgender Gleichung erfolge:

$$(C_4H_5O_6K)_2 + SO_4Ca = C_4H_6O_6 + C_4H_4CaO_6 + SO_4K_2$$ [1])

und noch vor wenigen Jahren sprach sich Gautier [2]) in ähnlichem Sinne aus. Nach dem Gutachten von Béchamp, Prax und Garcin, sowie dem von Bussy und Buignet [3]) dagegen ist das Salz als saures, schwefelsaures Kali = $SO_4HK$ in den gegypsten Weinen enthalten. In einer im Jahre 1879 erschienenen längeren Ab-

[1]) Annales d'Hygiène II, **10**, 325.

[2]) Bulletin de la société chim. **27**, 11.

[3]) Recueil des traveaux du comité consultatif d'Hygiène publique de France **8**, 345.

handlung Pollacci's[1]) über das Gypsen des Weines und Mostes kommt er zu folgenden Schlüssen:

„Das beim Gypsen sich bildende Kaliumsulfat ist das saure und nicht das neutrale. Die Menge desselben beträgt 1 g im Liter, sofern das Gypsen beim fertigen Wein vorgenommen wurde; sie kann aber auf 5 bis 6 g steigen, wenn man den Gyps mit der Traube gähren lässt. Unabhängig von dem Gehalt an Kaliumdisulfat sind die gegypsten Weine sehr reich an schwefelsaurem und weinsaurem Calcium. Zuweilen tritt eine Reduction des Gypses unter Entbindung von Schwefelwasserstoff und Bildung von Aethylmercaptan in wechselnden Verhältnissen ein, je nach der angewendeten Menge Gyps und Dauer der Gährung; dieses Mercaptan bildet sich auch in geschwefelten Weinen."

Für die Beurtheilung der Gesundheitsschädlichkeit gegypster Weine ist die Kenntniss, in welcher Form das Kaliumsulfat darin enthalten sei — ob als neutrales oder saures Salz — von Wichtigkeit. Wir wollen daher diese Frage einer kurzen Betrachtung unterziehen.

Dass die obige Gleichung $(C_4H_5O_6K)_2 + SO_4Ca = C_4H_6O_6 + C_4H_4CaO_6 + SO_4K_2$, welche die Umsetzung zwischen Gyps und Weinstein der Trauben ausdrücken soll, nicht ganz correct sein kann, geht aus der Thatsache hervor, dass neutrales schwefelsaures Kali neben freier Weinsäure nicht existenzfähig ist, indem unter Abscheidung von Weinstein in der Lösung Kaliumdisulfat zurückbleibt. Wässerige verdünnte Lösung von $SO_4K_2$, mit der äquivalenten Menge Weinsäurelösung versetzt, gab beim Stehen einen krystallinischen Niederschlag, der, auf ein Filter gesammelt und mit Wasser bis zum Verschwinden der Schwefelsäurereaction im Filtrate ausgewaschen, sich als reines saures weinsaures Kalium erwies. Das bei 110° getrocknete Salz gab bei der Kaliumbestimmung 20.63 Proc. K. Die Verbindung: $C_4H_5KO_6$ enthält 20.79 Proc. K. Auch giebt Gypslösung weder mit Weinsäure, noch mit saurem, weinsaurem Kali eine Trübung, worin bekanntlich sich die Weinsäure von der Traubensäure unterscheidet. Die Lösung der letzteren Säure wird durch Gypswasser unter Abscheidung des traubensauren Kalks getrübt. Viel wahrscheinlicher ist die Annahme, dass der Gyps sich mit dem Weinstein der Trauben zu neutralem, schwefelsaurem Kali und saurem, weinsaurem Kalk, gemäss der Gleichung $SO_4Ca + (C_4H_5O_6K)_2 = SO_4K_2 + (C_4H_5O_6)_2Ca$, umsetzt.

Saurer weinsaurer Kalk ist ebenfalls in Wasser schwer löslich und thatsächlich setzt sich Weinstein mit Chlorcalcium in diesem Sinne um. Kalt gesättigte Lösung von $C_4H_5KO_6$ wurde im Ueberschusse mit 10 Proc. Chlorcalciumlösung versetzt. Nach kurzer Zeit setzte sich ein Niederschlag, aus schönen, durchsichtigen Krystallen bestehend, ab, der, abfiltrirt, ausgewaschen und bei 110° getrocknet, bei der Kalkbestimmung folgende Zahlen ergab: 0.208 g des Salzes gaben 0.0889 g $CO_3Ca$ = 0.03556 g Ca oder 11.9 Proc. Die Verbindung: $(C_4H_5O_6)_2Ca$ enthält 11.8 Proc. Ca. Die Umsetzung erfolgte also im Sinne folgender Gleichung:

$$(C_4H_5O_6K)_2 + CaCl_2 = (C_4H_5O_6)_2Ca + (KCl)_2.$$

[1]) Gazz. chim. ital. **9**, 37 und Jahresber. d. Chem. 1879, S. 1130.

Bedenkt man jedoch, dass in dem Most ausser der Phosphorsäure noch Bernsteinsäure, Aepfelsäure und flüchtige Fettsäuren vorkommen und dass ferner der zugesetzte Gyps stets wechselnde Mengen, zwischen 5 bis 10 Proc., Kalkcarbonat enthält, so erscheint es gewagt, die durch das Gypsen des gährenden Mostes stattfindenden chemischen Umsetzungen durch eine einfache Gleichung präcisiren zu wollen.

Die Frage, ob in dem fertigen gegypsten Weine neutrales oder saures schwefelsaures Kali enthalten ist, kann immerhin mit Sicherheit beantwortet werden und zwar auf Grund seiner Acidität.

Durch das Gypsen wird der Säuregrad der Weine nicht wesentlich verändert, eher vermindert.

Der amtliche Chemiker des Cantons Bern, Herr Dr. Schaffer, hat uns bezüglich des Säuregehaltes von ihm untersuchter gegypster Weine folgende Zahlen gefälligst mitgetheilt:

| Bezeichnung des Weines: | $SO_4K_2$ im Liter: | Säuregrad im Liter, auf Weinsäure bezogen: | |
|---|---|---|---|
| Narbonne (1881 er) | 2.9 | 5.63 | |
| Alicante | 3.6 | 4.13 | |
| Bordeaux | 2.73 | 7.03 | |
| Ord. franz. Rothwein | 3.0 | 6.98 | |
| Montagne | 3.52 | 5.85 | Weinstein 2.45 Proc. |
| Roussillon | 4.31 | 5.25 | |
| Narbonne | 3.66 | 3.7 | |
| Petit Bordeaux | 2.5 | 4.2 | petiotisirt |
| Ord. franz. Rothwein | 2.0 | 6.37 | coupirt. |

Es ergiebt sich hieraus, dass der Säuregrad gegypster Weine mehr wie hinreichend ist, um das neutrale schwefelsaure Kali in saures überzuführen. Dass diese Umwandlung wirklich geschieht, ist oben, bezüglich der Weinsäure, nachgewiesen worden und es ist mit Sicherheit anzunehmen, dass auch die Bernstein- und Aepfelsäure des Weines das neutrale in das saure Calciumsulfat verwandeln. Dass auch die Essigsäure in wässeriger Lösung aus neutralem saures Calciumsulfat bildet, geht aus folgenden Versuchen hervor:

10 g reines neutrales, schwefelsaures Kali, in Wasser gelöst, wurden mit so viel Essigsäure versetzt, als der Theorie nach nöthig war, um das neutrale Salz in saures, schwefelsaures Kali und essigsaures Kali zu zerlegen. Die Lösung wurde bei gelinder Wärme verdunstet und der Kaligehalt von drei verschiedenen Fractionen der Krystalle bestimmt. Nr. I bezeichnet die zuerst erhaltenen Krystalle, die hiervon abfiltrirte Lauge lieferte die Krystallisation Nr. II, und die Lauge dieser Krystalle. beinahe zum Trocknen eingedampft, die Krystallisation Nr. III.

### Bestimmung des Kaliums.

Von Nr. I. 0.3831 g der Substanz gaben 0.3650 g $K_2SO_4$ oder 0.1643 g K = 42.88 Proc. K.

0.4400 g der Substanz gaben 0.4190 g $K_2SO_4$ oder 0.1881 g K = 42.75 Proc. K.

Von Nr. II. 0.3386 g der Substanz gaben 0.3340 g $K_2SO_4$ oder 0.1499 g K = 44.27 Proc. K.

Von Nr. III. 0.4130 g der Substanz gaben 0.4104 g $K_2SO_4$ oder 0.1842 g K = 44.60 Proc. K.

Es enthielten demnach Kalium:

Nr. I = 42.81 Proc. Mittel der beiden Analysen.
„ II = 44.27 „
„ III = 44.60 „

Das neutrale schwefelsaure Kali $K_2SO_4$ enthält = 44.80 Proc.

[Fasst man die Krystallisation Nr. I, welche 42.81 Proc. K enthält, als ein Gemenge von $K_2SO_4$ (enth. 44.80 K) und $KHSO_4$ (28.89 Proc.) auf, so müssten 100 g der Mischung aus 83.2 g $K_2SO_4$ und 16.8 g $KHSO_4$ bestehen, damit das Gemenge die gefundene Procentzahl Kalium (42.81) enthält.] Es geht aus diesem Versuche hervor, dass in der wässerigen Lösung essigsaures und saures schwefelsaures Kali enthalten waren. Beim Eindampfen der Lösung wird die flüchtige Essigsäure durch die Schwefelsäure allmählich ausgetrieben, so dass die letzte Krystallisation aus reinem, neutralem Kaliumsulfat besteht.

Der dem Moste zugesetzte Gyps setzt sich nicht allein mit dem Weinstein des Saftes, sondern auch mit dem Weinstein des Fleisches und der Schalen der Trauben, wie Chancel zeigte, um. So erklärt es sich, dass Naturwein mit etwa 3.7 g gelöstem Weinstein durch das Gypsen 7.388 g Kaliumsulfat = $SO_4K_2$ enthielt, was auf Weinstein umgerechnet 16.14 g $C_4H_5KO_6$ im Liter entsprechen würde.

Aus den Versuchen Poggiale's geht also hervor, dass die Umsetzung zwischen Gyps und Weinstein eine viel vollständigere ist, wenn der Gyps zum Most und nicht zum bereits fertigen Weine zugesetzt wird. Im Allgemeinen wird durch das Gypsen fertiger Weine der Gehalt an Kaliumsulfat relativ kleiner und der Gyps bleibt in solchen Weinen einfach gelöst. Die von der französischen Commission selbst gegypsten Weine, wo der Gypszusatz zu bereits fertigem Weine geschah, enthielten durchschnittlich 3.55 g $SO_4Ca$; im Maximum 4.39 g, im Minimum 2.7 g $SO_4Ca$ im Liter.

Die wiederholt aufgetauchte Angabe war noch zu prüfen, ob in platrirten Weinen freie Schwefelsäure enthalten sei. Die Anwesenheit dieser Säure im freien Zustande, abgesehen von absichtlichem grossem Zusatze, war a priori nicht anzunehmen.

Veranlassung zu der Annahme freier Schwefelsäure in Weinen könnte nur die Verwechselung derselben mit der Aetherschwefelsäure $SO_4HC_2H_5$ geben. Saures schwefelsaures Kalium, mit starkem Alkohol übergossen, wird bekanntlich in neutrales Salz verwandelt, während Schwefelsäure sich in Alhohol löst. Andererseits ist es bekannt, dass Schwefelsäure und Alkohol bei längerem Stehen sich schon bei gewöhnlicher Temperatur unter Wasseraustritt zu Aethylschwefelsäure vereinigen. Um uns über diesen Punkt Aufklärung zu verschaffen, wurden je 10 g reines, saures, schwefelsaures Kalium einerseits mit 90 Proc., andererseits mit 10 Proc. Alkohol so lange ausgewaschen, bis von der mit 10 Proc. Alkohol gewaschenen Fraction nur noch etwa 1 g auf dem Filter übrig blieb. Sodann wurden die Fractionen bei 110° getrocknet und darin der Gehalt an Kalium bestimmt. Das Salz $SO_4HK$ enthielt

vor dem Auswaschen 28.89 Proc. K. Nach dem Auswaschen mit 90 Proc. Alkohol 38.10 Proc. K, nach dem Auswaschen mit 10 Proc. Alkohol 43.98 Proc. K. Das neutrale, schwefelsaure Kalium enthält 44.80 Proc.

Hieraus ergiebt sich, dass schon 10 Proc. Alkohol das saure, schwefelsaure Kalium fast vollständig in das neutrale Salz und Schwefelsäure zerlegt und die Annahme erscheint uns gerechtfertigt, dass in platrirten Weinen bei längerem Stehen derselben allmählich Aethylschwefelsäure entsteht.

Das Gypsen der Weine war schon im Alterthume bekannt und gegypster Wein ist also seit jeher in vielen Gegenden getrunken worden. Obgleich nun seit mehreren Jahrzehnten die Gesundheitsbehörden auf die mögliche Schädlichkeit gegypster Weine aufmerksam wurden, ist das thatsächliche Material, welches wir darüber in der Literatur auffinden konnten, sehr dürftig.

Die ersten Klagen über gegypste Weine stammen von der französischen Armee in Afrika, speciell in Oran, wo mehrere Rechtsstreitigkeiten entstanden und wo nach den Berichten der Militärsanitätsbeamten, welche hierbei als Experten functionirten, gegypste Weine die Ursache von Erkrankungen waren [1]). Servoisier [2]), Oberapotheker des Militärspitals in Oran, berichtet über mehrere Fälle, welche die Schädlichkeit gegypster Weine darthun, er beruft sich hierbei auf das Zeugniss des Herrn Scrive, welcher, obgleich selbst von kräftiger Constitution, nicht ohne Schaden für seine Gesundheit gegypste Weine trinken konnte.

Viel sicherer sind die Angaben, welche über eine Reihe von Erkrankungen vorliegen, welche im Jahre 1856 in St. Martin d'Estreaux (Loire) beobachtet worden sind und in sicheren Zusammenhang mit dem Genuss gegypsten Weines gebracht werden konnten. Das Hospital des Ortes reichte nicht aus, um die Erkrankten zu bergen. — Der Weinhändler wurde auf Grund mehrerer Gutachten von dem Tribunal zu Roanne und dem Appellhof zu Lyon verurtheilt. Allein auch in diesem Falle ergaben die Gutachten, dass der Wein ausser Gyps auch Alaun enthielt, so dass die schädlichen Wirkungen dieses Weines nicht allein dem Gyps zugeschrieben werden konnten.

Sehen wir hiervon ab, so beschränkt das ganze von uns aufgefundene Material sich auf wenige Einzelerkrankungen, wie sie auch unter Umständen nach dem Genusse nicht gegypsten Weines beobachtet werden.

Der französische Justizminister hat einer im Jahre 1879 zur Beurtheilung der Frage niedergesetzten Commission das ganze, auf dieselbe bezügliche gerichtliche Material vorgelegt, und der Bericht dieser Commission betont, dass ihr nur ganz leichte Erkrankungen zur Kenntniss gebracht wurden, bei denen die Erkrankten nicht einmal die Herbeiziehung ärztlicher Hülfe für nöthig erachtet hatten [3]).

Die Krankheitserscheinungen bestanden in rasch vorübergehenden Koliken und Erbrechen. In einzelnen Fällen wiederholte sich die Erkrankung jedesmal, sobald der angeschuldigte Wein als Getränk benutzt wurde, so dass die Erkrankung als

[1]) Chevalier, Des vins plâtrés. Annales d'Hygiène publique **10**, 311.

[2]) Journ. d. Pharm. 1855, S. 355.

[3]) Rapport sur les vins plâtrés par Legouest. Recueil des traveaux du comité consultatif d'Hygiène publique en France **8**, 340.

Folge des Genusses dieses Weines angesehen werden musste. Der in diesen Fällen untersuchte Wein ergab einen Gehalt an schwefelsaurem Kali von 3 bis 5 pro Mille. In einem Falle, in welchem der Zusammenhang zweifelhaft erscheinen kann, wurde sogar nur ein Gehalt von 2 pro Mille gefunden.

Wir halten es für nöthig, besonders hervorzuheben, dass nach dem vorliegenden Material die acute toxische Wirkung gegypster Weine nur eine vorübergehende ist und ähnlich der, wie man sie nach übermässigem Genuss von Naturweinen beobachten kann. Nur selten gelangen solche Fälle in ärztliche Behandlung und in den allerseltensten Fällen dürfte es bis zu gerichtlicher Anzeige kommen.

Die wesentliche Veränderung, welche Naturwein durch das Gypsen erleidet, ist der Ersatz des sauren weinsauren Kalis durch das saure schwefelsaure Kali. Selbst in stark gegypsten Weinen, mit 4 bis 6 pro Mille Kaliumsulfat, ist die Menge des Kaliums noch geringer oder nur ebenso gross als in den gebräuchlichsten Nahrungsmitteln, wie z. B. der Milch, die im Liter etwa 4 g phosphorsaures Kali enthält. Die bekannte schädliche Wirkung grosser Dosen Kalisalze auf den Organismus kommt hier also ausser Betracht und es wäre nur die Wirkung der beiden schwefelsauren Kalisalze als solche in Erwägung zu ziehen.

Die Wirkung des neutralen schwefelsauren Kalis ist gut bekannt. Dasselbe ist ein bei Erwachsenen in einer Gabe von 12 bis 15 g wirkendes Abführmittel. Es ist früher in ausgedehntem Maassstabe in Frankreich als populäres Mittel zur Vertreibung der Milch bei Wöchnerinnen verwendet worden. Gerade aber hierbei sind mitunter als Folge der Anwendung und unter relativ kleinen Gaben höchst alarmirende Folgen beobachtet worden; in einem Falle erfolgte unter choleraähnlichen Erscheinungen der Tod [1]). Es ist wahrscheinlich, dass in diesem Falle, wie es in vielen anderen nachgewiesen worden, Verunreinigungen des Salzes mit giftigem Material vorgelegen haben; immerhin haben diese Erscheinungen zur Folge gehabt, dass das Salz vollkommen aus dem Arzneischatze verbannt worden ist.

Nun haben wir aber nach den oben gegebenen Auseinandersetzungen anzunehmen, dass der gegypste Wein den grössten Theil des schwefelsauren Kalis nicht als neutrales, sondern als saures Salz enthält.

Ueber die Wirkung des sauren schwefelsauren Kalis fehlen in der Medicin alle Beobachtungen. Dasselbe ist als Arzneimittel völlig ungebräuchlich. Die Commission hat sich nicht für berechtigt gehalten, zur Aufklärung dieser Frage Versuche an Menschen, die allein ein entscheidendes Resultat ergeben würden, anzustellen. Immerhin ist mit grosser Wahrscheinlichkeit vorauszusetzen, dass das saure Salz eine viel ungünstigere Materie ist, als das neutrale, und dass die Bedenken, welche das Aufgeben des neutralen Kaliumsulfates veranlassten, in viel höherem Grade bei dem sauren Salze gelten müssen.

Bei der Beurtheilung der Gesundheitsschädlichkeit gegypster Weine muss nicht allein die augenblickliche toxische Wirkung berücksichtigt werden, sondern auch der lange fortgesetzte Genuss kleinerer Dosen des Kaliumbisulfates.

Saures schwefelsaures Kalium verhält sich in mancher Hinsicht wie freie

[1]) **Chevalier**, Annales d'Hygiène publique, l. c., p. 140.

Schwefelsäure. Es giebt mit Methylviolett, sowie mit Rhodansalzen und essigsaurem Eisenoxyd die Reaction auf freie Mineralsäure [1]).

Wir wissen, namentlich durch die Versuche Salkowski's, sowie die späteren von Lassar, Schmiedeberg und Gaethgens [2]), dass bei Thieren durch Zufuhr von verdünnter Schwefelsäure in kleinen Dosen aus dem Blute und den Geweben Alkali entzogen wird, indem die zugeführte Schwefelsäure als neutrales Alkalisulfat zur Ausscheidung kommt. Diese fortgesetzte Alkalientziehung ist namentlich für den Organismus des Pflanzenfressers tödtlich.

Bei den Fleischfressern und wahrscheinlich auch bei den Menschen wird durch Säureeinfuhr darum keine den Lebensprocess bedrohende Alkalientziehung erzeugt, weil sich unter dem Einfluss der Säure, allerdings bis zu gewisser Grenze, mehr Ammoniak entwickelt, durch welches diese gebunden, also unschädlich gemacht wird.

Wir haben uns durch einen besonders angestellten Versuch überzeugt, dass auch das Kaliumdisulfat im Organismus des Fleischfressers alkalientziehend wirkt.

Einem Hunde wurde durch Aderlass Blut entzogen und darin der Alkaligehalt mittelst Normalsäure [3]) bestimmt.

15 ccm Blut erforderten bis zur neutralen Reaction 9.5 ccm von der Normalsäure = 63.3 ccm Säure für 100 ccm Blut.

Es wurden hierauf dem Thiere, unter Beibehaltung seiner gewöhnlichen Nahrung, aus Pferdefleisch bestehend, während acht Tagen täglich 2 bis $2^1/_2$ g saures schwefelsaures Kali in verdünnter Lösung durch die Schlundsonde applicirt, dabei erbrach sich der Hund häufig und seine Fresslust war vermindert. Nach acht Tagen wurde von Neuem der Grad der Alkalescenz im Blute bestimmt.

20 ccm Blut erforderten 9.8 ccm Normalsäure = 49 ccm Säure für 100 ccm Blut. Unter dem Einflusse also des sauren schwefelsauren Kalis hat die Alkalescenz des Blutes im Laufe von acht Tagen um 22 Proc. abgenommen. Pflanzensaure Alkalien, auch als saure Salze eingeführt, verbrennen im Thierkörper zu kohlensauren Alkalien. Die Gefahr der Alkalientziehung wäre daher nur bei solchen hochgegypsten Weinen vorhanden, welche beim Veraschen keine alkalisch reagirende Asche mehr hinterlassen, in denen also alles Alkali an Schwefelsäure gebunden ist.

---

[1]) Der Gedanke lag nahe, dieses Verhalten des Kaliumbisulfates zum directen Nachweise desselben in gegypsten Weinen zu benutzen. Ein Rothweinmuster (Narbonne) mit 4.8 pro Mille Kaliumsulfat als neutrales Salz berechnet, wurde mehrere Male bis zur völligen Entfärbung durch reine, mittelst Säure gereinigte Thierkohle filtrirt. Beide Reactionen, sowohl die mit essigsaurem Eisenoxyd als auch die mit Methylviolett, fielen negativ aus. Durch directen Versuch überzeugten wir uns, dass noch eine 2 pro Mille-Lösung von Kaliumdisulfat diese Reaction gab. Diese 2 pro Mille-Lösung wurde nunmehr durch die gleiche Thierkohle filtrirt. Die angestellte Probe fiel jetzt sowohl mit essigsaurem Eisenoxyd und Rhodanammonium, sowie mit Methylviolett negativ aus. Thierkohle hält also die Säure zurück.

[2]) Vergl. hierüber: Maly's Jahresbericht über die Fortschritte der Thierchemie **2**, 200 **3**, 138; **4**, 107, 397; **6**, 155 u. 210; **7**, 124; **10**, 259.

[3]) Die Lösung enthielt 7.5 g Weinsäure im Liter. 1 ccm der Normalsäure entspricht 4 mg Natriumhydroxyd.

In Erwägung des oben Gesagten gelangen wir bei Beantwortung der gestellten Fragen zu folgendem Ergebniss:

1. Die Gesundheitsschädlichkeit gegypster Weine, welche auch mehr als 2 g im Liter enthalten, ist bis jetzt durch zweifellose Thatsachen nicht erwiesen; andererseits steht es fest, dass bei Genuss stark gegypsten Weines einzelne Inconvenienzen beobachtet sind, und dass, wie aus den oben angeführten theoretischen Raisonnements ersichtlich ist, bei fortgesetztem Gebrauche stark gegypster Weine ein Schaden für die Gesundheit entstehen kann.

2. Aus diesen Gründen halten wir es für ungerechtfertigt, den Verkauf gegypster Weine ohne jede Beschränkung zuzulassen. Das absolute Maass der Zulässigkeit wird bei jedem Mangel an positiven Erfahrungen einigermaassen willkürlich gegriffen werden müssen; wir halten dafür, dass die in der Verordnung betreffend die Untersuchung geistiger Getränke vom 10. Herbstmonat 1879, Paragraph 23 gegebenen Vorschriften in der Hauptsache zutreffend sind. Sie bieten einerseits dem Publicum genügende Sicherheit gegen Erkrankungen in Folge Genusses gegypster Weine, andererseits belästigen sie die Producenten und Händler nicht mehr, als wie dies in Frankreich geschieht, also demjenigen Staate, welcher an der Zulassung gegypster Weine ein weit höheres Interesse haben muss, als der Canton Bern.

Die Beantwortung der Frage, ob die Einwirkung gegypster Weissweine (Marsala, Palermo u. a.) auf den Organismus eine verschiedene, vielleicht intensivere von derjenigen ist, welche gegypste Rothweine verursachen, muss von uns wegen Mangels an thatsächlichem Material abgelehnt werden.

Naturweine enthalten schon als solche geringe Mengen von schwefelsauren Salzen. Nach den Analysen des Oberapothekers in Val-de-Grâce, Prof. Marty (siehe Monit. scient. 1878, p. 1059), enthalten Naturweine im Liter höchstens 0.583 g Sulfate, als neutrales Kaliumsulfat = $SO_4K_2$ berechnet (Maximum aus 38 Analysen). Die Commission schlägt daher vor, bei der Abfassung gesetzlicher Bestimmungen über die Zulässigkeit gegypster Weine, dieselben folgendermaassen zu formuliren:

Die Klärung mittelst Gyps (Platriren) darf dem Weine pro Liter im Maximum nur einen Gehalt an schwefelsauren Salzen zuführen, der 2 g schwefelsauren Kaliums, als neutrales Salz = $SO_4K_2$ berechnet, entspricht.

Doch ist Jedermann, der Naturwein gekauft oder bestellt hat, befugt, denselben zurückzuweisen, wenn er mehr als 0.6 g neutrales schwefelsaures Kali im Liter enthält.

Bern, den 20. Februar 1882.

---

# Beiträge zur Lehre von der Antisepsis

von

## Fr. Boillat.

Journ. prakt. Chem. **25**, 300. — In.-Diss. Bern. — Nach dem Referate von Dr. Gruber abgedruckt, Maly's Jahresber. **12**, 508.

R. Koch [1]) legt bei Beurtheilung eines Desinfectionsmittels das Hauptgewicht darauf, ob es im Stande sei, die Bacterien und ihre Sporen rasch zu tödten oder nicht. Unter allen Desinfectionsmitteln haben daher nur Chlor, Brom, Jod, Sublimat seine volle Anerkennung gefunden. Der Standpunkt Koch's ist aber einseitig, denn in vielen Fällen, so vor Allem in der praktischen Medicin, sind solche Mittel völlig genügend, welche schädigend, entwickelungshemmend auf die Spaltpilze wirken, während die Anwendung der oben erwähnten Mittel ausgeschlossen ist, da sie ebenso zerstörend auf die Gewebe wie auf die Spaltpilze wirken würden.

Die entwickelungshemmende Wirkung der verschiedenen Substanzen kommt jedenfalls auf sehr verschiedene Weise zu Stande.

Da die antiseptisch wirkenden Salze der schweren Metalle mit Eiweiss in Wasser unlösliche Verbindungen eingehen, so prüfte Verfasser auf Nencki's Vorschlag das Verhalten der Spaltpilze auf solchen Eiweissmetallniederschlägen, um so für diese Gruppe der Antiseptica ein Verständniss ihrer Wirkung anzubahnen.

Blutserum und Eiereiweiss (mit dem zwei- und vierfachen Wasser verdünnt) wurden mit Phenol-, Chlorzink-, Kupfervitriol-Sublimatlösung im Ueberschuss versetzt, die Niederschläge auf dem Filter so lange gewaschen, bis das Fällungsmittel im Filtrat nicht mehr nachzuweisen war.

Die Niederschläge wurden dann zu 2 bis 3 g mit Wasser zu einem dünnen Brei angerührt und, lose bedeckt, bei Zimmertemperatur neben frischem Blutserum und Koch'scher Nährgelatine sich selbst überlassen. In einer zweiten Versuchsreihe wurde ein grüner Coccus (1 μ diam.) von einem Kaffeeaufguss, in einer dritten Milzbrand ausgesäet. Das Resultat war folgendes.

1. In den Controlpräparaten war schon in den ersten 24 Stunden deutliche Pilzentwickelung wahrnehmbar. Bei der ersten Reihe nach zwei bis vier Tagen ausgesprochene Fäulniss, bei der dritten in derselben Zeit üppiges Wachsthum und Sporenbildung. 2. Die Phenoleiweissniederschläge faulten ebenfalls in zweimal 24 Stunden, was sich aber dahin aufklärte, dass das Phenol aus dem Eiweissniederschlage völlig ausgewaschen war. 3. Kupfer-, Zink- und Quecksilberalbuminat sind sehr ungünstige Nährsubstrate. Bei der ersten Reihe trat auf Kupferalbuminat sichtbare Pilzentwickelung erst nach 28 Tagen, ausgesprochene Fäulniss erst nach 40 Tagen ein, auf Zinkalbuminat nach 31 resp. 46 Tagen, auf Quecksilberalbuminat

[1]) Dr. R. Koch, Ueber Desinfection. Separatabdruck aus den Mittheilungen des kaiserlichen Gesundheitsamtes, Band 1. — Referat in Maly's Jahresber. **11**, 471.

nach 48 resp. 60 Tagen. Der grüne Coccus und die Milzbrandbacterien zeigten auch nach vier Wochen absolut keine Vermehrung. Wie das Sublimat das stärkste Antisepticum unter den Metallsalzen, so leistete auch die Quecksilberverbindung am längsten Widerstand gegen die Fäulniss. Wahrscheinlich wären die betreffenden Verbindungen dauernd gegen die Fäulniss geschützt, wenn nicht der Sauerstoff und das Wasser zersetzend auf sie wirken würden. Die Metallsalze, in specie das Chlorzink, wirken also, auf Wunden gebracht, dadurch antiseptisch, dass sie das Eiweiss an der Wundoberfläche in die betreffende Metallverbindung überführen und so zu einem ungünstigen Nährboden machen. Bedingung ihrer Wirksamkeit ist, dass sie in genügender Menge angewendet werden. Koch (l. c.) erhielt deshalb beim Chlorzink nicht einmal eine entwickelungshemmende Wirkung, weil das zugesetzte Salz nicht hinreichte, alles Eiweiss zu fällen, daher für die Pilze noch genug taugliche Nahrung vorhanden war.

Ferner zeigt Verfasser, dass Koch's Versuche, Thiere durch Sublimatinjectionen gegen Milzbrand zu schützen, im Princip verfehlt sind, indem das injicirte Sublimat alsbald Quecksilberalbuminat bilden muss, dessen geringe Menge (3 mg $HgCl_2$ injicirt) keinen Einfluss auf die Spaltpilzentwickelung haben kann. Versuche mit Jodoform und verwandten Stoffen als Zusatz zu Ochsenpankreas ergaben: Jodoform hinderte die Fäulniss nicht, auch nicht, als 2 g davon zu 10 g Pankreas mit wenig Wasser zugesetzt wurden. Bei 1 Proc. Kohlenstoffdichlorid, Kohlenstoffhexachlorid, Kohlenstofftetrachlorid, festem und flüssigem Bromtoluol, Pyrogallolmethyläther trat Fäulniss binnen 24 Stunden ein; ebenso bei einem Gehalt von 0.05 bis 0.4 Proc. Parakresol. Dagegen hinderte das Parakresol in Concentration von 0.5 bis 2.0 Proc. die Fäulniss vollständig, während die Wirkung des Trypsins nicht beeinflusst war (reichliche Tyrosinbildung).

## Untersuchungen über die physiologische Oxydation

von

**M. Nencki** und **N. Sieber.**

Journ. prakt. Chem. 26, 1.

In Fortsetzung unserer Arbeit „Ueber die Zersetzung des Traubenzuckers und der Harnsäure durch Alkalien bei der Bruttemperatür“ [1]) haben wir eine Reihe von Versuchen ausgeführt, um zu ermitteln, ob und welchen Antheil der atmosphärische Sauerstoff an der Zersetzung verschiedener organischer Substanzen hat, wenn sie in alkalischer Lösung bei der Bruttemperatur digerirt werden. Da diese Untersuchungen zunächst ihrer physiologischen Bedeutung wegen unternommen wurden, so haben wir hauptsächlich das Verhalten solcher Substanzen gegen Alkalien und Sauerstoff untersucht, welche entweder Bestandtheile der Nahrungsstoffe oder des Thierkörpers

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **24**, 498. — Dieser Band S. 607.

selbst sind. In Verfolgung der mit Traubenzucker erhaltenen Resultate haben wir dann auch einige Beobachtungen mitzutheilen, welche für das Verständniss der Aetiologie des Diabetes mellitus von Bedeutung sind. Wir wollen mit der Beschreibung der von uns beobachteten Thatsachen beginnen.

## I.

In der oben citirten Arbeit haben wir gezeigt, dass, wenn Traubenzucker mit dem zehnfachen Gewichte an Wasser und dem doppelten an Alkalihydrat 24 Stunden bei der Bruttemperatur digerirt wird, er bis auf geringe Spuren sich zersetzt, wobei etwa zur Hälfte Gährungsmilchsäure entsteht, neben Producten, deren genaue Charakterisirung uns nicht gelang. Wir haben diese Versuche wieder aufgenommen und zunächst festgestellt, dass auch bei vollkommenem Ausschluss von Sauerstoff die Bildung der Milchsäure aus Dextrose durch Alkali geschieht. Es wurden einerseits Kali-, andererseits Zuckerlösung [1]) ausgekocht und im Wasserstoffstrome erkalten gelassen. Die Zuckerlösung befand sich in einem grösseren, mit doppelt durchbohrtem Kautschukkork verschlossenen Kolben. Durch die Bohrungen im Korke gingen zwei Glasröhren hindurch, von denen eine bis auf den Boden des Kolbens reichte. Zu der Zuckerlösung wurde nun die kalte Kalihydratlösung in dem oben angegebenen Verhältnisse hinzugefügt, durch die Mischung noch eine halbe Stunde lang Wasserstoff hindurchgeleitet, und hierauf im Wasserstoffstrome die Enden der beiden Glasröhren zugeschmolzen. Nach 48stündigem Stehen bei der Bruttemperatur, während welcher Zeit die alkalische Zuckerlösung sich ebenso wie an der Luft bräunte, wurde der Kolben geöffnet und zunächst mittelst der Trommer'schen Probe constatirt, dass der Zucker bis auf ganz geringe Spuren zersetzt war. Es wurde nun die Lösung mit der nöthigen Menge Schwefelsäure, um alles Alkali in neutrales Sulfat zu verwandeln, versetzt, die Lösung auf dem Wasserbade verdunstet und der Rückstand mit Aether extrahirt. Obgleich die Hauptmenge der Milchsäure gleich in den Aether übergeht, so war es doch nöthig, etwa achtmal den Rückstand von Neuem mit Aether auszuziehen, um die letzten Reste der Milchsäure zu gewinnen. Die nach dem Abdestilliren des Aethers hinterbliebene Milchsäure wurde in das Zinksalz verwandelt und durch Wägung des bei 110° getrockneten Zinklactates die Menge der erhaltenen Milchsäure ermittelt. Für 20 g Dextrose erhielten wir 9.4 g Milchsäure oder 47 Proc., also nahezu die Hälfte von dem Gewichte des angewandten Zuckers.

Um zu erfahren, ob alkalische Zuckerlösungen atmosphärischen Sauerstoff absorbiren, wurden in einen Literkolben 10 g Zucker, 20 g Kalihydrat und 200 ccm Wasser gebracht, sodann der Kolben mit einem luftdicht schliessenden Kork, der mit einem Ableitungsrohr versehen war, verschlossen und vier Tage lang bei 40° stehen gelassen. Hierauf wurde die Spitze des Ableitungsrohres unter Quecksilber abgebrochen und die Luft aus dem Kolben durch gelindes Erwärmen in ein mit Quecksilber gefülltes Eudiometer übergetrieben. Das Volum des Gases erlitt weder

[1]) Zu diesen, sowie allen folgenden Versuchen wurde stets chemisch reine Dextrose, nach der Soxhlet'schen Methode bereitet, angewendet.

nach Zusatz von einem Stückchen Aetzkali, noch nach Zusatz einer alkalischen Pyrogallollösung die geringste Verminderung. Das Gas bestand demnach aus reinem Stickstoff und der sämmtliche im Kolben eingeschlossene atmosphärische Sauerstoff wurde von der alkalischen Zuckerlösung absorbirt.

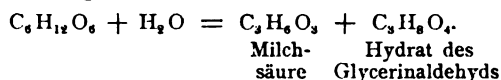
Um die Grenze der Absorptionsfähigkeit der alkalischen Dextroselösung für Sauerstoff zu ermitteln, wurden folgende Versuche angestellt. In einem genau gewogenen Mohr'schen Kaliapparat, der mit einem U-förmigen, mit drei Kugeln versehenen Röhrchen verbunden war, in welchem sich concentrirte Schwefelsäure befand, werden zunächst eine annähernd 5 proc. Zucker-, sodann eine annähernd 10 proc. Kalilösung eingesogen und nach jedesmaligem Einsaugen der Apparat gewogen. Da der Gehalt an Zucker und an KOH vorher genau ermittelt wurde (die Zuckerlösung enthielt genau 4.943 Proc. Dextrose, die Kalilösung 10.1119 Proc. KOH), so konnte leicht der Gehalt der Lösung im Apparate an Zucker und an Kali berechnet werden. Die Lösung enthielt 1.2311 g Zucker, 2.520 g Kali und 24.9034 g Wasser. Der so beschickte Apparat wurde im Luftbade auf 40° erwärmt und ein langsamer Strom reinen Sauerstoffgases durchgeleitet. Da das Gas zuerst die alkalische Zuckerlösung, sodann die concentrirte Schwefelsäure passirte, so hat die letztere einem Gewichtsverluste durch Verdunstung vorgebeugt. Im Ganzen haben wir 13 Stunden lang Sauerstoff durchgeleitet, bis der Apparat nicht mehr an Gewicht zunahm. Die Gewichtszunahme war in diesem Falle = 0.1792 g oder auf den angewandten Zucker berechnet 14.55 Proc.

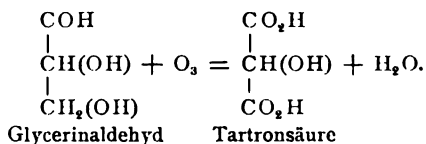
Der Versuch wurde noch einmal wiederholt. 1.2402 g Dextrose, 2.6981 g Kalihydrat in 25.5868 g Wasser gelöst, absorbirten 0.1818 g Sauerstoff oder 14.67 Proc. vom Gewichte des angewandten Zuckers.

Um zu sehen, ob diese Oxydation des Zuckers unter Bildung von Kohlensäure geschieht, wurde die alkalische Flüssigkeit, nachdem sie keinen Sauerstoff mehr absorbirte, in ein kleines Kölbchen entleert, bis auf 50 ccm verdünnt, und darin durch Zersetzen mit Schwefelsäure die entweichende Kohlensäure in einem gewogenen Kaliapparat aufgefangen und bestimmt. Im ersten Versuche betrug die Menge der entwickelten $CO_2$ 0.0286 g oder 2.32 Proc. von dem Gewicht des angewandten Zuckers. Im zweiten Versuche erhielten wir 0.0277 g $CO_2$ oder 2.23 Proc. von dem Gewichte des Zuckers. Diese auffallend geringe Kohlensäuremenge, welche in keinem Verhältnisse zu der Menge des aufgenommenen Sauerstoffs stand, brachte uns auf die Vermuthung, dass sie vielleicht nicht von der Zersetzung des Zuckers herrühre, sondern einfach unser Kalihydrat, das allerdings aus Alkohol umkrystallisirt war, noch etwas Alkalicarbonat enthalte. Wir haben deshalb zur Controle vom gleichen Kalihydrat annähernd eine gleiche Menge wie in den Versuchen mit Zucker in 50 ccm Wasser gelöst und durch Zersetzen mit Schwefelsäure die darin enthaltene Kohlensäure bestimmt. 2.4581 g Kalihydrat gaben uns auf die Weise 0.0103 g oder 0.419 Proc. $CO_2$. Zieht man nun diese Menge von der mit Zucker erhaltenen ab, so ergiebt es sich, dass in beiden Versuchen bei der Oxydation des Zuckers in alkalischer Lösung durch den atmosphärischen Sauerstoff nur eine ganz minime Menge Kohlensäure — nicht ganz 2 Proc. — aus dem Zucker gebildet wurde.

Die aufgenommene Sauerstoffmenge steht in keinem einfachen Verhältnisse zu

dem Aequivalentgewicht der Dextrose. Am nächsten entspricht sie noch den Gleichungen: $C_6H_{12}O_6 + O_2 = C_6H_{12}O_8$ oder auch $C_6H_{12}O_6 + O_3 = C_6H_{10}O_8 + H_2O$, welche eine Gewichtszunahme von 17.7 Proc. erfordern. Möglich, dass die Differenz von den Fehlerquellen des ziemlich umständlichen Versuches herrührt, wahrscheinlicher ist es uns aber, da die Dextrose, ausser in Milchsäure, noch in mehrere nicht charakterisirte Producte gespalten wurde, dass diese letzteren verschiedene Sauerstoffmengen absorbirt haben, wodurch die Aufstellung einer einfachen Gleichung nicht möglich ist. Zieht man aber den Umstand in Betracht, dass die Hälfte des angewandten Zuckers zu Milchsäure wird und dass von den letzten Spaltungsproducten Kohlensäure nur in minimaler Menge und Oxalsäure, wie wir uns überzeugt haben, gar nicht auftritt, so ist die nächstliegende Annahme, dass die Hauptmenge der Dextrose bei Luftausschluss in Milchsäure und in Glycerinaldehyd gespalten wurde, gemäss der Gleichung:

$$C_6H_{12}O_6 + H_2O = \underset{\text{Milchsäure}}{C_3H_6O_3} + \underset{\text{Hydrat des Glycerinaldehyds}}{C_3H_8O_4}.$$

Rénard[1]) beschrieb als Glycerinaldehyd einen von ihm durch Einwirkung von elektrolytischem Sauerstoff auf Glycerin erhaltenen Körper, der, eine weisse amorphe Substanz von penetrantem Geruch, in Wasser wenig, in Alkohol nahezu unlöslich ist und bei 71 bis 72° schmilzt. Eine solche Substanz entsteht bei der Einwirkung von Kalihydrat auf Dextrose bei Luftausschluss nicht. Indessen schon Henninger[2]) betrachtet die Substanz von Rénard nicht als Glycerinaldehyd, sondern als unreines Trioxymethylen. Die Oxydation des Zuckers bei Luftzutritt, wo ebenfalls etwa 50 Proc. der Milchsäure entstehen, würde dann ihre einfache Erklärung in der Oxydation des Glycerinaldehyds zu Tartronsäure finden:

$$\underset{\text{Glycerinaldehyd}}{\begin{array}{l} COH \\ | \\ CH(OH) \\ | \\ CH_2(OH) \end{array}} + O_3 = \underset{\text{Tartronsäure}}{\begin{array}{l} CO_2H \\ | \\ CH(OH) \\ | \\ CO_2H \end{array}} + H_2O.$$

Zu Gunsten dieser Annahme spricht auch die Beobachtung von Claus[3]), dass bei der Zersetzung des Traubenzuckers in alkalischer Lösung durch Kupferoxyd Tartronsäure entsteht. Unsere Untersuchungen hierüber sind noch nicht abgeschlossen. Wir hoffen durch Ersetzen des aus den Lösungen schwer ganz zu entfernenden Kalihydrats durch Barythydrat günstigere Resultate, sowie auch über die wahre Zusammensetzung des als Glucinsäure beschriebenen Zersetzungsproductes der Dextrose durch Alkalien Aufschluss zu erlangen. Hier sei nur bemerkt, dass durch Einwirkung von Barythydrat auf Zucker bei der Bruttemperatur ebenfalls Gährungsmilchsäure entsteht.

Nachdem wir gesehen haben, dass Zucker, in Alkalihydrat gelöst, schon durch den atmosphärischen Sauerstoff oxydirt wird, war es von Interresse, zu sehen, ob

[1]) Compt. rend. **83**, 562.

[2]) Ber. **8**, 1345.

[3]) Ann. Chem. Pharm. **147**, 114.

Dextrose bei Gegenwart von Alkalicarbonat ebenfalls Sauerstoff absorbiren würde; namentlich da wir früher gefunden haben, dass durch kohlensaure Alkalien aus Zucker keine Milchsäure entsteht. Um gleichzeitig auch die Menge des absorbirten Sauerstoffs zu bestimmen und so eine Vorstellung über die Intensität der Oxydation zu erhalten, haben wir hier sowie in allen weiter unten zu beschreibenden Versuchen folgende einfache Methode angewendet. — Die Lösungen wurden in einen starkwandigen Kolben von genau bekanntem Inhalt gebracht. Sodann wurde der Kolben mit einem einfach durchbohrten Kautschukkork, durch dessen Bohrung ein Ableitungsrohr hindurchging, verschlossen und mit Bindfaden über Kreuz zugebunden. Die Spitze des Ableitungsrohres wurde entweder sofort zugeschmolzen, oder, falls Zersetzung der Lösung durch Mikroorganismen zu befürchten war, dieselbe vorerst eine Zeit lang zum Sieden erhitzt, hierauf das Ende des Ableitungsrohres mit in Phenol getränkter Watte lose verschlossen und nach völligem Erkalten das Ende zugeschmolzen. Nachdem noch die Lufttemperatur und der Barometerstand notirt waren, wurde der Kolben bei der Bruttemperatur im Wasserbade stehen gelassen. Da der Kolben in der Regel nur zu einem Dritttheil oder höchstens zur Hälfte gefüllt war, so nahm Luft den übrigen Raum ein. Im Falle die Lösung Sauerstoff absorbirte, musste das relative Verhältniss von O zu N ein anderes werden als wie in der Luft. Die Bestimmung des Sauerstoffs geschah durch Absorption mittelst alkalischer Pyrogallollösung. Durch mehrere Controlversuche haben wir uns überzeugt, dass, falls die Pyrogallollösung in der von Hempel[1]) empfohlenen Concentration (1 ccm einer 25 proc. Pyrogallollösung auf 6 ccm einer klaren Lösung von 2 Gew.-Thln. Aetzkali in 1 Thl. Wasser) angewendet wird, der gefundene Sauerstoffgehalt zwischen 20.6 bis 20.9 Vol.-Proc. schwankt, also die Differenz höchstens 0.3 Vol.-Proc. beträgt.

Die Versuche mit Traubenzucker und Soda ergaben uns folgende Resultate:

50 g Dextrose, 40 g $CO_3Na_2$ in 800 ccm Wasser gelöst, also 6.25 Proc. Dextrose und 5 Proc. Sodalösung wurden in einem Kolben von 3360 ccm Inhalt bei 17.8° und 715 mm Bst. eingeschlossen und sechs Tage lang bei 35 bis 40° stehen gelassen. Die Analyse der eingeschlossenen Luft ergab folgende Zahlen:

1. Aus dem Kolben entnommene Luftprobe auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt . . . . . . . . . 30.77 ccm
2. Nach Absorption der Kohlensäure . . . . . . . . . 30.74 „
3. Nach Absorption des Sauerstoffs . . . . . . . . . 30.41 „

Hieraus ergiebt sich das relative Verhältniss von O : N = 1.17 : 98.83 und der Gesammtsauerstoffverbrauch = 434.4 ccm oder 0.62139 g, was auf das Gewicht der angewandten Dextrose (40 g) berechnet einer Sauerstoffabsorption von 1.55 Proc. entspricht.

Nachdem wir gesehen haben, dass auch bei Gegenwart von kohlensauren Alkalien Dextrose Sauerstoff absorbirt, war es von Interesse zu erfahren, ob in stark verdünnten Lösungen und bei sehr geringem Alkaligehalt, also unter Verhältnissen, wie sie im Thierkörper vorhanden sind, Zucker schon durch atmosphärischen Sauer-

[1]) Neue Methoden der Gasanalyse. Braunschweig 1880, S. 121.

stoff oxydirt wird. Der Versuch zeigte, dass dies der Fall ist, nur verläuft die Oxydation äusserst langsam. Der Alkaligehalt des Blutes beträgt auf $CO_3Na_2$ berechnet etwa 0.2 Proc. Wir haben daher 0.5 Proc. Zucker- und 0.25 Proc. Sodalösung oder genauer 2.5 g Zucker und 1.25 g $CO_3Na_2$ in 500 ccm Wasser gelöst und nach vorherigem Auskochen in einem Kolben von 1260 ccm Inhalt mit Luft bei der Bruttemperatur während 15 Tagen digerirt. Die hierauf entnommene Gasprobe lieferte folgendes Resultat:

1. Aufgefangenes Gasvolum auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt . . . . . 59.94 ccm
2. Nach Absorption der Kohlensäure . . . . . 58.45 „
3. Nach Absorption des Sauerstoffs . . . . . 53.68 „

oder in Volumprocenten 7.95 Proc. O, 2.47 Proc. $CO_2$ und 89.55 Proc. N und hieraus das Verhältniss von O : N = 8.17 : 91.81. Da das Ableitungsrohr zugeschmolzen wurde, als der Kolbeninhalt auf 15° bei 733 mm Bst. abgekühlt war, so ist das eingeschlossene Luftvolum auf 0° und 760 mm Bst. reducirt = 682.7 ccm. Der gesammte Sauerstoffverbrauch war also = 84.09 ccm oder 0.12028 g = 4.8 Proc. von dem Gewichte des angewandten Zuckers.

Wässerige, alkalifreie Dextroselösung absorbirt bei der Bruttemperatur keinen Sauerstoff, wie aus folgendem Versuche hervorgeht:

300 g 5 proc. Zuckerlösung wurden in einen Kolben von 965 ccm Inhalt mit Luft bei 10° und 722 mm Bst. eingeschlossen und zehn Tage lang bei 40° digerirt.

1. Entnommene Gasprobe auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt . . . . . 48.85 ccm
2. Nach Zusatz von KOH . . . . . 48.85 „
3. Nach Absorption des Sauerstoffs . . . . . 38.78 „

Das Verhältniss von O : N ist hier = 20.61 : 79.37, demnach keine Sauerstoffabsorption.

Der Umstand, dass auch bei Gegenwart von Alkalicarbonat Zucker durch den atmosphärischen Sauerstoff oxydirt wird, veranlasste uns, eine Reihe von Versuchen anzustellen, in der Absicht, die Oxydationsproducte zu charakterisiren. Der Erfolg unserer Bemühungen war jedoch sehr gering. Wir haben zunächst constatiren können, dass auch bei Ausschluss allen Sauerstoffs Dextrose durch Alkalicarbonate bei der Bruttemperatur theilweise zersetzt wird. Eine Lösung, die 5 Proc. Dextrose und 10 Proc. $CO_3Na_2$ enthielt, bräunte sich allmählich und als nach Verlauf von drei Wochen die alkalische Lösung mit der berechneten Menge Schwefelsäure neutralisirt und nach dem Verdunsten auf dem Wasserbade der Rückstand mit Aether extrahirt wurde, hinterliess der abdestillirte Aether einen zähen, syrupösen Rückstand, der in Wasser und Alkohol leicht löslich war, alkalische Kupferlösungen schon in der Kälte reducirte und an der Luft, namentlich beim Erwärmen, sich stark bräunte. Hauptsächlich ihrer leichten Zersetzbarkeit wegen konnten wir nicht diese Substanz etwa durch Darstellung einer krystallinischen Metallverbindung in eine analysirbare Form bringen.

Lässt man Dextrose mit Soda und beschränkter Menge Luft in verschlossenen Kolben bei der Bruttemperatur stehen, so kann aus der in obiger Weise verarbeiteten

Lösung durch Extraction mit Aether neben braunen Producten eine syrupöse, alkalische Kupferlösungen reducirende Säure erhalten werden, die mit Zinkhydroxyd ein amorphes, in absolutem Alkohol unlösliches Salz giebt. Aus dem Zinksalze gelang es uns, durch doppelte Zersetzung ein in Wasser leicht lösliches, krystallinisches Kalksalz darzustellen. Neben der Säure, welche mit Zink ein amorphes Salz giebt, tritt noch in minimaler Menge eine zweite auf, die mit Zinkoxyd ein schwer lösliches krystallinisches Salz giebt. Die Trennung und Reindarstellung dieser Producte ist mit so viel Verlust verbunden, dass wir sie nicht in für Analysen hinreichender Menge erhalten konnten; und als wir in der Absicht, in grösserer Menge die Oxydationsproducte zu bereiten, 50 g Dextrose mit 200 g Soda in 10 proc. Lösung einen Monat lang bei der Bruttemperatur stehen liessen, erhielten wir aus dem Aetherextracte das krystallinische, in Wasser schwer lösliche Zinksalz nicht mehr, wohl aber Essigsäure in erheblichen Mengen.

Auch bei Zimmertemperatur (15 bis 20°) wird Zucker durch Alkalicarbonate, resp. Hydroxyde, in letzterem Falle unter Bildung von Milchsäure, zersetzt, nur wie zu erwarten war, geschieht diese Zersetzung sehr langsam.

In gleicher Weise wie mit Zucker wurden auch Versuche mit Eiweisskörpern ausgeführt. Um den störenden Einfluss der Fäulniss abzuhalten, wurden die Eiweisslösungen entweder mit Salicylsäure versetzt oder bei Anwendung sehr verdünnter Alkalien durch Auskochen der Lösungen von etwaigen Spaltpilzkeimen befreit. Da die Spaltpilze sehr energisch atmosphärischen Sauerstoff absorbiren, so wollen wir besonders hervorheben, dass in allen unseren Versuchen die Lösungen nach Entnahme der Gasproben sorgfältig mikroskopisch untersucht wurden und in allen Fällen, wo in dem Präparate auch nur vereinzelte Mikroorganismen zu finden waren, selbst wenn die Flüssigkeit keinen fauligen Geruch hatte, der Versuch als misslungen erachtet wurde.

200 g 1 proc. Eiweisslösung aus Eiern wurden mit 2 g Natronhydrat in einem Kolben von 1260 ccm Inhalt ausgekocht und nach dem Erkalten bei 17.8° und 715 mm Bst. das Ableitungsrohr zugeschmolzen. Nach zwölftägigem Stehen bei der Bruttemperatur wurde die eingeschlossene Luft analysirt. Beim Abbrechen der Spitze zeigte sich negativer Druck und die Flüssigkeit roch schwach ammoniakalisch — unter dem Mikroskope sah man keine Spaltpilze.

| | | |
|---|---|---|
| 1. | Aufgefangene Gasprobe auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt | 34.44 ccm |
| 2. | Nach Absorption des Ammoniaks | 34.35 „ |
| 3. | Nach Absorption des Sauerstoffs | 29.62 „ |

Das relative Verhältniss von O : N = 13.57 : 86.42.

Das Volum der eingeschlossenen Luft auf 0° und 760 mm Bst. reducirt ist = 915.23 ccm, mithin der gesammte Sauerstoffverbrauch = 66 ccm oder 0.09439 g = 4.7 Proc. von dem Gewichte des angewandten Eiweisses.

1 g Kalihydrat wurde in einem Kolben von 1230 ccm Inhalt in 500 ccm heissem Wasser gelöst, der Lösung 0.4312 g Lieberkühn'sches Eiweiss hinzugesetzt, von Neuem erhitzt, sodann auf 15° bei 724 mm Bst. abgekühlt, zugeschmolzen und acht Tage lang bei der Bruttemperatur digerirt.

1. Entnommenes Gasvolum auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 49.39 ccm
2. Nach Zusatz von Kalihydrat . . . . . . . . . . . . . . 49.39 „
3. Nach Absorption des Sauerstoffs . . . . . . . . . . . . 40.15 „

O : N = 18.7 : 81.2. Das Volum der eingeschlossenen Luft auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt war = 669.8 ccm oder die Menge des absorbirten Sauerstoffs war = 0.02012 g.

Eiereiweiss und Soda. 1.6 g Eiereiweiss und 0.8 g $CO_3Na_2$ in 160 ccm Wasser gelöst, also 1 Proc. Eiweiss und 0.5 Proc. Sodalösung wurden in einem Kolben von 1092 ccm Inhalt ausgekocht und nach dem Erkalten bei 8° und 714 mm Bst. zugeschmolzen. Auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt war das Volum der miteingeschlossenen Luft = 930 ccm. Nach 7 tägigem Stehen bei der Bruttemperatur wurde das Gas analysirt.

1. Entnommene Luft auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 31.28 ccm
2. Nach Zusatz von KOH . . . . . . . . . . . . . . . . 30.78 „
3. Nach Zusatz von Pyrogallol . . . . . . . . . . . . . . 25.04 „

Oder in Procenten: 1.58 Proc. $CO_2$, 18.35 Proc. O und 80.07 Proc. N. Das Verhältniss von O : N = 18.64 : 81.34, woraus sich der gesammte verbrauchte Sauerstoff als = 17.32 ccm oder 0.02478 g ergiebt.

Aehnlich also wie Zucker absorbiren auch Eiweisslösungen bei Gegenwart von Aetzalkalien und stärkerer Concentration den Sauerstoff viel intensiver als wie in verdünnten Lösungen und bei Gegenwart von Alkalicarbonaten. Auf Grund des letzten Versuches ist die Annahme berechtigt, dass auch die eiweisshaltigen alkalisch reagirenden Gewebe des Thierkörpers schon durch den molekularen Sauerstoff, wenn auch äusserst langsam, oxydirt werden. — Gleich dem Eiweiss absorbirt auch das Pepton bei Gegenwart von Alkali nur sehr langsam Sauerstoff.

10 g Pepsin-Pepton, 5 g NaOH in einem Liter Wasser gelöst, also 1 Proc. Pepton und 0.5 Proc. NaOH-Lösung wurden in einem Kolben von 2073 ccm Inhalt ausgekocht und nach dem Erkalten bei 8° und 722 mm Bst. zugeschmolzen. Nach 11 tägiger Digestion bei der Bruttemperatur wurde die Luft analysirt.

1. Entnommenes Luftvolum auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 63.78 ccm
2. Nach Absorption der $CO_2$ . . . . . . . . . . . . . . . 63.09 „
3. Nach Absorption des Sauerstoffs . . . . . . . . . . . . 51.63 „

Oder in Procenten: 1.08 $CO_2$, 17.97 O und 81.28 N. Verhältniss von O : N = 17.5 : 82.5. Das reducirte Volum der eingeschlossenen Luft war 976.5 ccm, woraus sich die Menge des verbrauchten Sauerstoffs als = 32.0 ccm oder 0.04578 g ergiebt.

Noch geringer als die des Eiweisses und Peptons ist die Absorptionsfähigkeit des Glutins.

4 g Gelatine und 8 g Natronhydrat wurden in 200 ccm Wasser gelöst, in einem Literkolben ausgekocht, bei 8° und 720 mm Bst. zugeschmolzen und 12 Tage lang bei der Bruttemperatur stehen gelassen. Die hierauf entnommene Luftprobe

enthielt keine Kohlensäure und nicht bestimmbare Menge Ammoniak, das Verhältniss von O:N war gleich 20.2:79.8, also eine kaum merkbare Sauerstoffabnahme. Wie zu erwarten war, absorbiren neutrale Gelatinelösungen keinen Sauerstoff.

10 Proc. Gelatinelösung oder 50 g Gelatine in 500 ccm Wasser gelöst wurden ausgekocht und 13 Tage lang bei 40° stehen gelassen.

Die hierauf analysirte Luft ergab folgendes Resultat:

1. Entnommene Luftprobe auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 78.17 ccm
2. Nach Zusatz von KOH . . . . . . . . . . . . . . . . 78.06 „
3. Nach Zusatz von Pyrogallol . . . . . . . . . . . . . 61.89 „

Das Verhältniss von O:N = 20.71:79.29; demnach keine Sauerstoffabsorption.

Von Hüfner rührt die Angabe her, dass Fibrin bei der Bruttemperatur atmosphärischen Sauerstoff absorbirt und dafür Kohlensäure abgiebt. In einem Versuche, wo Fibrin mit 400 ccm Luft drei Wochen lang bei 40 bis 50° digerirt wurde, hatte die eingeschlossene Luft folgende Zusammensetzung:

| | | |
|---|---|---|
| N | 90.87 | Vol.-Proc. |
| O | 0.00 | „ „ |
| $CO_2$ | 9.13 | „ „ |

Wir erhielten nicht ganz das gleiche Resultat. In zwei Versuchen, wo wir in Wasser suspendirtes Fibrin, im ersten Falle 50 Minuten, im zweiten eine Stunde lang gekocht hatten und hierauf nach dem Zuschmelzen den Kolben bei der Bruttemperatur stehen liessen, war allerdings nach einigen Wochen der eingeschlossene atmosphärische Sauerstoff verschwunden, aber das Fibrin war durch Spaltpilze zersetzt. Im zweiten Falle war kein ausgesprochener Fäulnissgeruch bemerkbar. Die mikroskopische Untersuchung zeigte aber die Anwesenheit vereinzelter beweglicher Stäbchen. Offenbar reichte das Kochen nicht aus, um die im Innern der Fibrinbrocken vorhandenen Keime zu zerstören. Wir haben daher in einem dritten Versuch in einem Literkolben 120 g feuchtes Fibrin in 300 ccm Wasser suspendirt und, um die Fäulniss abzuhalten, mit 1.5 g Salicylsäure versetzt und vier Wochen lang bei 40° digerirt. Die hierauf analysirte eingeschlossene Luft hatte folgende Zusammensetzung:

1. Entnommene Luftprobe auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 36.12 ccm
2. Nach Absorption der Kohlensäure . . . . . . . . . . . 34.75 „
3. Nach Absorption des Sauerstoffs . . . . . . . . . . . 28.43 „

Oder in Procenten: 17.48 O, 3.7 $CO_2$ und 78.72 N.

Da, wie wir uns durch besonderen Versuch überzeugten, Salicylsäure bei der Bruttemperatur keine merklichen Mengen Sauerstoff absorbirt, die Flüssigkeit mit Fibrin vollkommen klar, geruchlos und frei von Spaltpilzen war, so ergiebt auch unser Versuch, dass Fibrin bei der Bruttemperatur Sauerstoff absorbirt und Kohlensäure abspaltet. Die Menge des absorbirten Sauerstoffs war jedoch bedeutend geringer, als wie in dem Versuche Hüfner's.

Im Anschluss an diese Versuche haben wir auch das Verhalten einiger thierischer Säfte und Gewebe gegen den atmosphärischen Sauerstoff bei der Bruttemperatur untersucht.

Zunächst wurde constatirt, dass seröse Flüssigkeiten bei Gegenwart freier Säure keinen Sauerstoff absorbiren.

700 ccm frischer Ascitesflüssigkeit mit 4.2 Proc. Eiweissgehalt wurden mit 300 ccm einer 1.66 proc. Salicylsäurelösung vermischt und in einem Zweiliterkolben 20 Tage lang bei 40° stehen gelassen. In der hierauf entnommenen Luftprobe war das Verhältniss von O:N = 20.27:79.28.

Es wurden nunmehr 300 ccm klarer Punctionsflüssigkeit von eiteriger Pleuritis, nach Absetzen der Eiterkörperchen, mit 4.5 g Natronhydrat versetzt und in einem Kolben von 1120 ccm 7 Tage lang bei 40° digerirt. Beim Oeffnen des Kolbens roch die Flüssigkeit ammoniakalisch, enthielt aber keine Spaltpilze, was auch bei dem hohen Alkaligehalt nicht zu erwarten war. Die Gasanalyse ergab folgende Zahlen:

1. Entnommene Luftprobe auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 56.84 ccm
2. Nach Absorption des Ammoniaks . . . . . . . . . . 56.72 „
3. Nach Absorption des Sauerstoffs . . . . . . . . . . . 51.37 „

Oder in Procenten: 0.21 $NH_3$, 9.41 O und 90.38 N.

Bei Gegenwart von Alkali wird daher Sauerstoff von serösen Flüssigkeiten in merklichen Mengen absorbirt. — Noch intensiver wird Sauerstoff vom Blutserum absorbirt, wie aus folgendem Versuche hervorgeht.

500 ccm frischen Serums aus Ochsenblut, das nur wenig rothe Blutkörperchen enthielt, wurden mit 200 ccm einer 3.5 proc. Lösung von Natronhydrat versetzt und in einem Zweiliterkolben 20 Tage lang bei der Bruttemperatur digerirt. Beim Oeffnen des Kolbens roch die Flüssigkeit schwach ammoniakalisch, die Blutkörperchen waren zerstört und spectroskopische Untersuchung zeigte, dass Hämatin in der Flüssigkeit gelöst war. Die Analyse der eingeschlossenen Luft ergab, dass sie nur aus Stickstoff und Ammoniak bestand.

1. Volum der entnommenen Luft auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt . . . . . . . . . . . . . . . . 31.16 ccm
2. Nach Zusatz von $SO_4H_2$ . . . . . . . . . . . . . 30.70 „
3. Nach Zusatz von Alkali und Pyrogallol . . . . . . 30.76 „

Gewebssäfte, vor Fäulniss geschützt, absorbiren bei der Bruttemperatur nur wenig Sauerstoff. Frische Ochsenleber wurde fein zerhackt, mit Wasser übergossen, durch ein Tuch filtrirt, das Filtrat auf ein Liter verdünnt und mit 5 g Salicylsäure versetzt. Der Eiweissgehalt dieser Lösung war = 4.1 Proc. Sie wurde 9 Tage lang bei der Bruttemperatur in einem Zweiliterkolben stehen gelassen. Die Analyse der miteingeschlossenen Luft ergab folgendes Resultat:

1. Volum der Luft auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 55.50 ccm
2. Nach Absorption der $CO_2$ . . . . . . . . . . . . . 54.02 „
3. Nach Absorption des O . . . . . . . . . . . . . . . 44.53 „

Oder in Procenten: 17.08 O, 2.67 $CO_2$ und 81.25 N. Das Verhältniss von O:N = 17.55:82.45.

Aehnliche Versuche, wie mit den Eiweissstoffen, haben wir auch mit den nächsten

Spaltungsproducten derselben, nämlich mit Leucin, Glycocoll und Tyrosin, ausgeführt und zwar mit folgenden Ergebnissen:

1 g Tyrosin und 2 g NaOH wurden, in 100 ccm Wasser gelöst, in einem Kolben von 420 ccm Inhalt ausgekocht und nach dem Erkalten auf 8° bei 720 mm Bst. zugeschmolzen. Das Volum der eingeschlossenen Luft reducirt war = 291.2 ccm. Die Flüssigkeit blieb 12 Tage lang bei 40° stehen. Nach dem Oeffnen enthielt die Flüssigkeit kein Ammoniak und der grösste Theil des Tyrosins konnte unverändert wiedergewonnen werden.

1. Aus dem Kolben entnommene Luft auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt . . . . . . . . . . . . . . . . . . 65.47 ccm
2. Nach Zusatz von KOH . . . . . . . . . . . . . . . . 64.86 „
3. Nach Zusatz von Pyrogallol . . . . . . . . . . . . . . 57.33 „

Oder in Procenten: 11.50 O, 0.92 $CO_2$ und 87.56 N. Verhältniss von O:N = 11.70:88.38 und daraus der gesammte Sauerstoffverbrauch = 31.46 ccm oder 0.0450 g = 2.25 Proc. von dem Gewichte des Tyrosins.

0.643 g Leucin, 1.6 g $CO_3Na_2$ wurden in 643 ccm Wasser gelöst, die Lösung ausgekocht, nach dem Erkalten zugeschmolzen und 1 Monat lang bei 40° stehen gelassen. Das Volum der miteingeschlossenen Luft reducirt war = 410.1 ccm. Die hierauf analysirte Luft ergab folgendes Resultat:

1. Volum der Luft auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 61.35 ccm
2. Nach Zusatz von KOH . . . . . . . . . . . . . . 61.17 „
3. Nach Zusatz von Pyrogallol . . . . . . . . . . . . 48.96 „

Oder in Procenten: 19.91 O, 0.29 $CO_2$ und 79.8 N. Das Verhältniss von O:N = 19.96:80.04.

Aus der verdunsteten Lösung wurde das unveränderte Leucin wiedergewonnen.

0.5 g Glycocoll, 0.25 g Soda wurden in 100 ccm Wasser gelöst, die Lösung ausgekocht, sodann auf 14° bei 722 mm Bst. erkalten gelassen, die Spitze zugeschmolzen und 5 Wochen lang bei der Bruttemperatur stehen gelassen. Das Volum der miteingeschlossenen Luft reducirt war = 479.9 ccm. Die Luftanalyse ergab uns folgende Zahlen:

1. Volum der Luft auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 56.18 ccm
2. Nach Zusatz von KOH . . . . . . . . . . . . . . . 53.80 „
3. Nach Zusatz von Pyrogallol . . . . . . . . . . . . . 44.39 „

Oder in Procenten: 16.71 O, 4.22 $CO_2$ und 79.02 N. Das Verhältniss von O:N = 17.47:82.52 und der gesammte Sauerstoffverbrauch 14.38 ccm.

Auch hier wurde aus der Lösung der grösste Theil des unveränderten Glycocolls wiedergewonnen.

0.5399 g Tyrosin und 0.247 g $CO_3Na_2$ wurden in 540 ccm Wasser gelöst und ausgekocht. Das reducirte Volum der miteingeschlossenen Luft war = 1331.2 ccm. Der Kolben blieb 40 Tage lang bei der Bruttemperatur stehen und die hierauf analysirte Luft hatte folgende Zusammensetzung:

| | | |
|---|---|---|
| 1. | Volum der Luft auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt | 59.09 ccm |
| 2. | Nach Zusatz von KOH | 58.44 „ |
| 3. | Nach Zusatz von Pyrogallol | 46.85 „ |

Oder in Procenten: 19.01 O, 1.78 $CO_2$ und 79.28 N. Das Verhältniss von O:N = 19.8:80.16.

Leucin, Glycocoll und Tyrosin in Verdünnungen und bei einem Sodagehalt, wie sie im Thierkörper wahrscheinlich sind, absorbiren demnach kaum merkliche Mengen Sauerstoff. Aehnlich wie bei den Eiweisskörpern ist, wie der erste Versuch mit Tyrosin zeigt, die Sauerstoffabsorption grösser, wenn nicht Alkalicarbonat, sondern Alkalihydroxyd angewendet wird.

Fettsäuren in alkalischer Lösung absorbiren bei der Bruttemperatur ebenfalls nur sehr wenig Sauerstoff.

2 g Oelsäure und 1 g Soda wurden in 1 Liter heissem Wasser gelöst, der Kolben nach dem Erkalten zugeschmolzen und einen Monat lang bei der Bruttemperatur stehen gelassen. Das Volumen der miteingeschlossenen Luft reducirt war = 1132 ccm. Die hierauf analysirte Luft hatte folgende Zusammensetzung:

| | | |
|---|---|---|
| 1. | Volum der Luft auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt | 59.09 ccm |
| 2. | Nach Absorption der Kohlensäure | 58.25 „ |
| 3. | Nach Absorption des Sauerstoffs | 46.63 „ |

Oder in Procenten: 19.64 O, 79.04 N und 1.41 $CO_2$. Das Verhältniss von O:N = 19.94:80.05 und folglich der Gesammtsauerstoffverbrauch nur 7.37 ccm.

Da das Neürin, ein Spaltungsproduct des Lecithins, ähnlich wie die Alkalihydroxyde aus Dextrose Milchsäure zu bilden vermag, so haben wir versucht, Neurin durch Lecithin zu ersetzen. 1 g Dextrose wurde in 20 ccm heissen Wassers gelöst und der auf 40° erkalteten Lösung 1 g Lecithin zugesetzt. Nach viertägigem Stehen bei der Bruttemperatur war der Zucker unverändert. Es war noch zu ermitteln, ob das schon bei 40° sich zersetzende Lecithin atmosphärischen Sauerstoff absorbirt. Als wir 1 g Lecithin in 100 ccm Wasser suspendirt und in einem Kolben von 500 ccm Inhalt vier Tage lang bei der Bruttemperatur stehen liessen, war allerdings der gesammte Sauerstoff verschwunden. Die mikroskopische Untersuchung der Flüssigkeit zeigte aber, dass sie Spaltpilze enthielt. Es wurde daher der Versuch in der Weise wiederholt, dass 1 g Lecithin in 100 ccm vertheilt und dann noch 1 g Phenol der Lösung zugesetzt wurde. Das Volum der miteingeschlossenen Luft reducirt war = 324.15 ccm. Der Kolben blieb nur drei Tage bei der Bruttemperatur stehen. Die Analyse der Luft zeigte, dass in der relativ kurzen Zeit merkliche Sauerstoffabsorption stattgefunden hatte. Die Flüssigkeit enthielt keine Spaltpilze.

| | | |
|---|---|---|
| 1. | Volum der Luft auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt | 49.95 ccm |
| 2. | Nach Zusatz von KOH | 49.95 „ |
| 3. | Nach Zusatz von Pyrogallol | 40.95 „ |

Das Verhältniss von O:N = 18.01:81.09 und daraus der Gesammtsauerstoffverbrauch 8.39 ccm.

Harnsäure, deren rasche Umwandlung bei der Bruttemperatur in Uroxansäure in unserer ersten Mittheilung beschrieben wurde, absorbirt schon als neutrales Natronsalz $= C_5H_2Na_2N_4O_3$ in wässeriger Lösung bei der Bruttemperatur Sauerstoff. Nur muss Sorge getragen werden, die Lösung so verdünnt zu machen, dass sich das saure Salz nicht absetzt. Um zu sehen, wie viel Sauerstoff die Harnsäure auch bei sehr langer Digestion aufnimmt, haben wir die Lösungen länger als einen Monat in der Bruttemperatur stehen gelassen. Das Ergebniss war, dass Harnsäure nur soviel Sauerstoff aufnimmt, als es der Gleichung $C_5H_4N_4O_3 + O + 2H_2O = C_5H_8N_4O_6$ entspricht. An der Luft wird daher Harnsäure in alkalischer Lösung nur zu Uroxansäure oxydirt und die daneben aufgefundenen Substanzen, wie Oxonsäure, Glyoxalharnstoff u. s. w., sind secundäre aus der Uroxansäure entstandene Producte.

0.2869 g Harnsäure und 0.137 g NaOH wurden in 717 ccm Wasser gelöst (also eine 0.04 proc. Harnsäurelösung), in einem Kolben von 1152 ccm ausgekocht, nach dem Erkalten auf 12° bei 720 mm Bst. zugeschmolzen und 35 Tage lang bei der Bruttemperatur stehen gelassen. Das reducirte Volumen der miteingeschlossenen Luft war = 387.2 ccm. Die nach Verlauf dieser Zeit ausgeführte Analyse der eingeschlossenen Luft ergab folgendes Resultat:

| | | |
|---|---|---|
| 1. | Volum der Luft auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt | 29.13 ccm |
| 2. | Nach Zusatz von KOH | 28.85 „ |
| 3. | Nach Zusatz von Pyrogallol | 24.33 „ |

Oder in Procenten: 0.98 $CO_2$, 15.49 O und 83.5 N. Verhältniss von O:N = 15.65:84.35 und daraus der Gesammtsauerstoffverbrauch = 19.747 ccm oder 0.02824 g. Nach der Gleichung $C_5H_4N_4O_3 + O$ berechnet, sollte die Sauerstoffabsorption 0.0278 g betragen. Die alkalische Flüssigkeit enthielt keine Harnsäure mehr.

Aus unserem Versuche geht daher hervor, dass durch die Verabreichung pflanzensaurer oder kohlensaurer Alkalien bei der harnsauren Diathese die Harnsäure nicht allein, wie schon Wöhler[1]) hervorgehoben, gelöst, sondern auch sofort und zwar schon durch den molekularen Sauerstoff oxydirt wird.

Die Ergebnisse der bisher beschriebenen Versuche, so namentlich die Thatsache, dass aus Dextrose auch bei vollkommenem Luftausschluss Milchsäure entsteht, und die Eiweissstoffe vorzugsweise dann Sauerstoff absorbiren, wenn sie mit starkem Ueberschusse an Alkalihydrat bei der Bruttemperatur digerirt werden, brachten uns auf die Vermuthung, dass bei allen diesen Zersetzungen die Hydratationen das Primäre sind und dass gerade im Momente der Spaltung der Moleküle durch Alkali, wo die Affinitäten frei werden, die Absorption des molekularen Sauerstoffs geschieht. Die Versuche aber, die wir nach dieser Richtung hin angestellt haben, zeigten, dass diese Annahme ungerechtfertigt ist.

In unserer ersten Mittheilung[2]) haben wir beschrieben, dass 5 g Harnsäure in

---

[1]) Zeitschr. f. Physiol. von Tiedemann und Treviranus **1**, 315. Heidelberg 1825.

[2]) Journ. prakt. Chem. [2] **24**, 503. — Dieser Band S. 610.

200 ccm 10 proc. Kalilösung gelöst, schon nach fünftägiger Digestion an der Luft bei 40° vollständig zu Uroxansäure oxydirt wurden. Wir haben diesen Versuch sonst ganz ceteris paribus, jedoch mit Ausschluss der Luft, die durch Wasserstoff ersetzt wurde, wiederholt. Nach zehntägigem Stehen bei der Bruttemperatur, also nach doppelt so langer Zeit, wie an der Luft, wurde der Kolben geöffnet und es zeigte sich, dass die Harnsäure durchaus unverändert geblieben war. Alkali allein, bei fehlendem Sauerstoff, vermag also Harnsäure nicht zu zersetzen.

Noch prägnanter sind die folgenden mit Eiweiss angestellten Versuche.

In ein Glasrohr, das an einem Ende kugelig ausgeblasen war, wurden 3 g Eiweiss und 3 g KOH, in 30 ccm Wasser gelöst, hineingethan, sodann das andere Ende zu einem langen Capillarrohr ausgezogen, unter spitzem Winkel umgebogen und zugeschmolzen. Das Volumen der mit der alkalischen Eiweisslösung eingeschlossenen Luft reducirt war = 90.03 ccm. Das Rohr wurde nunmehr 2.5 Stunden lang auf 100° erhitzt, hierauf nach dem Erkalten die Capillarspitze unter dem Quecksilbereudiometer abgebrochen und durch gelindes Erwärmen des kugeligen Endes ein Theil der Luft in das Eudiometer übergefüllt. Das Gas hatte schwach ammoniakalischen Geruch. Die Analyse ergab folgende Zusammensetzung der Luft:

| | | |
|---|---|---|
| 1. | Volum der Luft auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt | 23.55 ccm |
| 2. | Nach Zusatz von $SO_4H_2$ | 23.50 „ |
| 3. | Nach Absorption des Sauerstoffs | 20.24 „ |

Oder in Procenten: 13.83 O, 85.9 N und 0.28 $NH_3$ und der Gesammtsauerstoffverbrauch = 6.7 ccm.

Am nächsten Tage wurde die Spitze des Rohres von Neuem zugeschmolzen und drei Stunden lang auf 100° erhitzt. Die hierauf ausgeführte Analyse der eingeschlossenen Luft ergab folgende Zusammensetzung:

| | | |
|---|---|---|
| 1. | Volum der Luft auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt | 11.61 ccm |
| 2. | Nach Zusatz von $SO_4H_2$ | 11.61 „ |
| 3. | Nach Absorption des Sauerstoffs | 9.81 „ |

Das Verhältniss von O:N war demnach hier = 15.4 : 84.4 und der Gesammtsauerstoffverbrauch — 4.5 ccm.

Es wurde nunmehr 1 g Eiweiss mit 3 g $SO_4H_2$, die in 5 g Wasser gelöst waren, auf ganz gleiche Weise, wie in dem vorigen Versuch, drei Stunden lang im zugeschmolzenen Rohre auf 100° erhitzt. Das Verhältniss von Schwefelsäure zu Eiweiss und die Verdünnung wurden absichtlich hier so genommen, um das Eiweiss in peptonartige Materien, Leucin und Tyrosin, zu spalten. Die Analyse der miteingeschlossenen Luft zeigte aber, dass jetzt kein Sauerstoff absorbirt wurde.

| | | |
|---|---|---|
| 1. | Volum der Luft auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt | 24.18 ccm |
| 2. | Nach Zusatz von KOH | 23.00 „ |
| 3. | Nach Zusatz von Pyrogallol | 18.90 „ |

Oder in Procenten: 20.55 O, 78.53 N und 0.91 $CO_2$. Das Verhältniss von O:N = 20.74 : 79.26.

Wir haben den Versuch noch einmal wiederholt und das gleiche Eiweiss mit Schwefelsäure drei Stunden lang in zugeschmolzenem Rohre auf 110 bis 120° mit Luft erhitzt. Die Analyse der miterhitzten Luft zeigte aber, dass sie ganz normale Zusammensetzung hatte. Auch für die Sauerstoffabsorption der Eiweisslösungen ist die Hydratation nicht das Primäre, indem bei der Zersetzung des Eiweisses durch Schwefelsäure kein Sauerstoff absorbirt wird.

Das Gleiche findet statt, wenn Eiweiss durch das lösliche Pankreasferment in Peptone, Leucin und Tyrosin gespalten wird. Die Versuche mit den Fermenten, wo die Fermentlösung nicht erhitzt werden darf und doch der Ausschluss der Spaltpilze eine wesentliche Bedingung ist, sind ziemlich difficil. Zwei käufliche Trypsinpräparate, von denen durch Vorversuche constatirt wurde, dass sie Eiweiss lösen, wurden zu Fibrin, das durch Kochen mit Wasser sterilisirt war, in Pulverform zugesetzt. In beiden Fällen wurde nach 24 Stunden das Fibrin gelöst. Die Lösungen enthielten aber Spaltpilze und rochen nach Indol. Wahrscheinlich enthielt das Trypsinpulver vereinzelte Spaltpilzkeime. Wir haben uns daher selbst, nach der kürzlich erschienenen Vorschrift von Loew, das lösliche Pankreasferment dargestellt.

10 g feuchtes, zerkleinertes Fibrin wurden eine Stunde lang mit Wasser gekocht. Nach dem Erkalten wurden zu dem Fibrin 0.26 g frisch dargestelltes Loew'sches Pankreatin, das vorher in 20 ccm ausgekochtem Wasser gelöst und filtrirt war, und einige Milligramme Soda zugesetzt. Sodann haben wir die Spitze des Ableitungsrohres zugeschmolzen und den Kolben im Wasserbade bei 40° stehen gelassen.

Das reducirte Volum der miteingeschlossenen Luft war = 208.7 ccm. Schon nach dreistündiger Digestion löste sich das Fibrin sichtlich. Nach achtzehnstündigem Stehen, wo das Fibrin bis auf ganz geringen Rest gelöst war, wurde der Versuch unterbrochen und die eingeschlossene Luft analysirt.

| | | |
|---|---|---|
| 1. | Volum der Luft auf 0°, 760 mm Bst. und Trockne reducirt | 30.46 ccm |
| 2. | Nach Absorption der Kohlensäure | 29.64 „ |
| 3. | Nach Absorption des Sauerstoffs | 23.42 „ |

Oder in Procenten: 20.41 O, 76.86 N und 2.72 $CO_2$.

Das Verhältniss von O : N = 20.9 : 79.1. Demnach nicht die geringste Sauerstoffabsorption. Die Kohlensäure der eingeschlossenen Luft kann sehr wohl von der zugesetzten Soda herrühren, indem das Loew'sche Ferment sauer reagirt. Eine Stickstoffbildung beim Auflösen des Fibrins hat nicht stattgefunden, da sonst das Verhältniss von O : N ein anderes hätte werden müssen. Wir brauchen kaum zu bemerken, dass diese Lösung keine Mikroorganismen enthielt.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen über die Oxydation organischer Verbindungen in alkalischer Lösung bei der Bruttemperatur durch den molekularen Sauerstoff lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Alle die Körper, mit denen wir experimentiren, absorbiren in alkalischer Lösung mehr oder weniger atmosphärischen Sauerstoff und zwar ist die Absorption abhängig:

a) von der molekularen Structur der betreffenden Substanz,
b) von dem relativen Alkaligehalt und der Concentration der Lösung,
c) von der Dauer der Einwirkung.

2. Die Menge des absorbirten Sauerstoffs erreicht ein bestimmtes Maximum, das bei längerer Einwirkung nicht überschritten wird, auch wenn die entstandenen Producte noch weiterer Oxydation fähig sind. So absorbirte die Dextrose nur 14.7 Proc., die Harnsäure nur 9 Proc. ihres Gewichts an Sauerstoff — die Verbrennung durch den molekularen Sauerstoff ist nie eine vollständige.
3. Einzelne organische Verbindungen, wie z. B. Dextrose und Eiweiss, werden gleichzeitig durch das Alkali durch Hydratation zersetzt, doch ist die Hydratation nicht das Primäre und Nothwendige. Die Sauerstoffabsorption ist von der Hydratation unabhängig.

Die Oxydationen durch den molekularen Sauerstoff verlaufen äusserst langsam, namentlich wenn das Alkali nicht als Hydroxyd, sondern als Carbonat und in solcher Verdünnung, wie im Thierkörper, angewendet wird. Um z. B. 1 g Dextrose vollkommen zu $CO_2$ und $H_2O$ zu verbrennen, bedarf es 1.288 g Sauerstoff. Da nun bei einem Gehalt an Alkalicarbonat, wie er im Thierkörper ist (0.25 Proc.), der Zucker innerhalb 15 Tagen nur 0.12028 g Sauerstoff absorbirte, so würde es 160 Tage bedürfen, damit so viel Sauerstoff absorbirt werde, als es für die vollständige Oxydation des Zuckers nöthig ist. Noch längere Zeitdauer ergiebt eine ähnliche Berechnung für das Eiweiss. Bei einem Gehalte von 0.5 Proc. $CO_3Na_2$ absorbirte die 1 proc. Eiweisslösung innerhalb 7 Tagen 0.02478 g Sauerstoff. Um 1 g Lieberkühn'sches Eiweiss von der Zusammensetzung: $C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22}$ in Harnstoff, Kohlensäure, Wasser und Schwefelsäure nach der Gleichung: $C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22} + O_{156} = (CON_2H_4)_9 + 38(H_2O) + 63(CO_2) + SO_3$ überzuführen, bedarf es für je 1 g Eiweiss 1.03 g Sauerstoff, wozu nach dem obigen Ansatze eine Zeit von 291 Tagen erforderlich wäre. Mit dieser äusserst langsamen Oxydation verglichen, ist die für die Oxydation von 1.82 g Lophin zu benzoësaurem Ammoniak erforderliche Zeit von 20 Tagen noch verhältnissmässig kurz zu nennen. Um zu zeigen, welch verschwindend kleiner Menge einer phosphorescirenden Substanz und des Sauerstoffs es bedarf, um zu leuchten, hat Radziszewski[1]) 1.82 g Lophin in 25 ccm concentrirter alkoholischer Kalilösung gelöst, worauf sie 20 volle Tage und Nächte in ihrer ganzen Masse leuchtete. Um die 25 ccm Flüssigkeit leuchtend zu erhalten, waren demnach für je eine Stunde 0.00379 g Lophin und 0.000607 g Sauerstoff erforderlich.

Derartige Berechnungen haben vorwiegend deshalb Interesse, weil sie zeigen, auf wie äusserst langsamer Oxydation die physiologische Phosphorescenz beruht. Sie zeigen aber auch, dass zur Erklärung der energischen Sauerstoffabsorption in den lebendigen Geweben noch andere chemische Vorgänge in Betracht gezogen werden müssen. Man kann, und mit Recht, einwenden, dass im Thierkörper bei der grossen absorbirenden Oberfläche und der Bewegung des Blutes in den Capillaren die Absorption des molekularen Sauerstoffs in den dextrose-, eiweiss- und alkalihaltigen Geweben eine viel raschere sein muss, als wie in unseren Versuchen

[1]) Ann. Chem. Pharm. **203**, 331.

in verschlossenen Kolben, die nur von Zeit zu Zeit umgeschüttelt wurden. Wir sind auch der Ansicht, dass ähnlich wie eine 0.5 proc. Dextrose + 0.25 Proc. Sodalösung bei der Bruttemperatur Sauerstoff absorbirt, die Gewebssäfte des Thierkörpers bei gleichem Zucker- und Sodagehalt mit gleicher oder noch grösserer Intensität den molekularen Sauerstoff absorbiren müssen. Mit dieser Thatsache muss bei allen ferneren Untersuchungen über physiologische Verbrennung gerechnet werden. Viele organische Materien aber, von denen wir sicher wissen, dass sie im Thierkörper vollständig zu Kohlensäure und Wasser verbrennen, werden in alkalischer Lösung an der Luft nicht weiter oxydirt. Die aus dem Zucker entstandene Milchsäure wird in alkalischer Lösung bei der Bruttemperatur nicht verändert. Glycocoll, Leucin, Oelsäure absorbiren bei einem Sodagehalt von 0.25 Proc. nach monatelangem Stehen kaum nennbare Mengen Sauerstoff, im Thierkörper werden sie dagegen in wenigen Stunden zu Kohlensäure und Wasser, resp. Harnstoff umgewandelt.

Die von verschiedenen Chemikern wiederholt gemachte Beobachtung, dass die meisten Verbindungen, die schon durch den Luftsauerstoff oxydirt werden, gleichzeitig auch das Sauerstoffmolekül in seine Atome spalten, veranlasste uns, zu prüfen, ob bei der Oxydation des Zuckers und der Harnsäure in alkalischer Lösung das Auftreten des atomistischen Sauerstoffs sich würde nachweisen lassen.

Da Benzol durch Wasserstoffsuperoxyd oder Ozon, welche beide bei Gegenwart oxydabler Materien atomistischen Sauerstoff abspalten — $H_2O_2 = H_2O + O$ und $O_3 = O_2 + O$ — zu Phenol oxydirt wird und minimale Mengen des letzteren durch Brom leicht nachzuweisen sind, so haben wir die Oxydation des Phenols als Reagens auf atomistischen Sauerstoff benutzt.

10 g Traubenzucker wurden in 200 ccm 10 proc. Kalilösung gelöst und mit einigen Grammen reinen Benzols bei der Bruttemperatur unter häufigem Umschütteln an der Luft stehen gelassen. Nach zwei Tagen, wo der Zucker verschwunden war, wurde die Lösung auf dem Wasserbade verdunstet, der alkalische Rückstand mit Aether geschüttelt, die abgegossene ätherische Lösung nach Verjagung des Aethers und des Benzols mit $SO_4H_2$ angesäuert und aus kleiner Retorte destillirt. In dem Destillate war durch Brom kein Phenol nachweisbar.

Das gleiche negative Resultat erhielten wir, als Harnsäure und Benzol mit Alkalihydrat bei der Bruttemperatur bis zum Verschwinden der ersteren digerirt wurden. Wohl aber konnten wir die Oxydation des Benzols zu Phenol constatiren, als wir Benzol mit schwefelsaurem Eisenoxydul oder Kupferoxydul bei der Bruttemperatur an der Luft stehen liessen. Namentlich bei der Oxydation des Kupferoxyduls in saurer Lösung findet reichliche Phenolbildung statt. Als wir frisch gefälltes Kupferoxydul mit einigen Grammen Benzol und verdünnter Salzsäure 6 Tage lang bei 40° digerirten und von Zeit zu Zeit verdünnte Salzsäure hinzusetzten, erhielten wir so viel Tribromphenol, dass man damit wohl Elementaranalysen hätte ausführen können. Offenbar entsteht hier, wie dies aus den kürzlich publicirten interessanten Versuchen Traube's[1]) hervorgeht, zuerst Wasserstoffsuperoxyd, durch welches Benzol, wie Leeds[2]) zeigte, zu Phenol oxydirt wird.

[1]) Ber. **15**, 667.

[2]) Ebenda **14**, 975.

Da C. F. Kingzett[1]) bezweifelt, dass die von Leeds erhaltene Substanz wirklich Tribromphenol war, so wollen wir hervorheben, dass die bei der Oxydation des Benzols mittelst Kupferoxyduls erhaltene Substanz zweifellos Phenol ist. Das erhaltene, nach Phenol riechende Destillat färbt sich mit Eisenchlorid violett. Der durch Bromwasser entstandene Niederschlag löste sich beim Umschütteln leicht in Alkalien und wurde durch Salzsäure unverändert aus der Lösung gefällt. Eine andere, weniger empfindliche (als die mit Brom), aber für Phenol sehr charakteristische Reaction ist die Aurinbildung beim Erwärmen von Phenol und Salicyl- oder Paraoxybenzaldehyd mit concentrirter $SO_4H_2$. 1 ccm wässeriger Phenollösung, die kaum noch durch Eisenchlorid gefärbt wird, mit einigen Körnchen Paraoxybenzaldehyd versetzt, erwärmt sich beim Vermischen mit dem gleichen Volum concentrirter Schwefelsäure hinreichend, um Aurin zu bilden. Die Lösung färbt sich gelb, welche Färbung nach Uebersättigen mit Alkali schön rosa wird. Auch diese Reaction gab das durch Oxydation des Benzols mit Kupferoxydul erhaltene Phenol in ausgezeichneter Weise. Wie einer von uns gemeinschaftlich mit Giacosa schon früher gezeigt hat[2]), wird Benzol im Thierkörper nicht allein zu Phenol, sondern auch zu Brenzcatechin und Hydrochinon oxydirt. Sehr wahrscheinlich entstehen diese Substanzen neben dem Phenol in minimalen Mengen auch bei der Oxydation des Benzols durch Wasserstoffsuperoxyd, wodurch dann durch Zusatz von Brom nicht allein das Tribromphenol, sondern auch die Bromsubstitutionsproducte der Dioxyphenole entstehen.

Der Ort der Oxydationsprocesse im Thierkörper ist die lebendige protoplasmahaltige Zelle. Wir haben gezeigt, dass von den in den todten Zellen aufgefundenen Materien, wie Eiweiss, Dextrose, Fett und Lecithin, keine als solche, sondern nur vermöge des Alkali molekularen Sauerstoff absorbirt; auch scheint bei der Oxydation dieser Materien durch $O_2$ in alkalischer Lösung kein atomistischer Sauerstoff aufzutreten. Da durch zahlreiche Versuche erwiesen ist, dass das lebendige protoplasmatische Eiweiss Sauerstoff energisch absorbirt, so ist vor Allem in dem molekularen Bau desselben die Ursache seiner starken Affinität zu Sauerstoff zu suchen.

Es hat auch nicht an Vergleichen und Hypothesen gefehlt, um den Gegensatz zwischen dem beweglichen, lebendigen und dem inerten todten Protoplasmaeiweiss zu erklären. Es ist namentlich die Aldehydgruppe = CHO in organischen Verbindungen, die ohne Zweifel in zwei wesentlichen Punkten mit dem lebendigen Protoplasma übereinstimmt. Es ist dies: 1. die Oxydationsfähigkeit schon durch den molekularen Sauerstoff, wobei auch atomistischer Sauerstoff entstehen kann[3]), und 2. die Leichtigkeit, mit welcher mittelst der Aldehydgruppe Condensationen entstehen. Loew und Bokorny[4]) haben daher auch direct ausgesprochen, dass der Unterschied zwischen dem lebendigen und todten Protoplasma in der Anwesenheit respective in dem Nichtvorhandensein der Aldehydgruppen besteht.

[1]) Chem. News **44**, 229.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **4**, 325. — Dieser Band S. 508.

[3]) Nach Radenowitsch (Ber. **6**, 1208) entsteht bei langsamer Oxydation von Benzaldehyd an der Luft auch Wasserstoffsuperoxyd.

[4]) Die chemische Ursache des Lebens. München 1881.

Wir sind nicht der Meinung, dass die Sache so einfach und die Analogie zwischen Aldehyden und lebendigem, protoplasmatischem Eiweiss eine so vollkommene ist, als dies Loew und Bokorny anzunehmen scheinen. Ein wesentliches und charakteristisches Merkmal des lebendigen Protoplasmas ist, dass es ohne Sauerstoff nicht existiren kann, während Aldehyde ihre Natur und Eigenschaften nicht im mindesten bei Ausschluss von Sauerstoff verändern. In völlig sauerstofffreien Medien können die spontanen Protoplasmabewegungen nur kurze Zeit, höchstens einige Stunden fortdauern. Kühne verdrängte in der feuchten Kammer die atmosphärische Luft durch gereinigten Wasserstoff. Süsswasseramöben lagen nach mehr als 24 Minuten langem Durchleiten des Gases völlig regungslos am Boden des Tropfens. Plasmodien von Myxomyceten, ebenso das Protoplasma von Tradescantiahaaren zeigten erst nach mehrstündigem Ueberleiten von H keine Bewegungen mehr, die aber schon wenige Minuten nach Luftzutritt wieder in vollem Gang waren. Noch nach 24stündigem Wasserstoffstillstand war Wiederbelebung von Plasmodien durch Luft möglich. — Contractile Zellen aus den Lymphsäcken des Frosches fand Engelmann erst nach zweistündigem Durchleiten von reinstem H durch die hermetisch schliessende feuchte Kammer bewegungslos, dabei meist kugelig. Ebenso Süsswasseramöben. Auch für verschiedene Arten von Flimmerzellen wurde das Sauerstoffbedürfniss von Engelmann nachgewiesen. Bei sehr langem Aufenthalt in reinem Wasserstoff stirbt das Protoplasma ab, meist unter Trübung, Vacuolenbildung, endlich Zerfall[1]).

Wir halten dafür, dass eben diese fortdauernde Umsetzung zwischen dem molekularen Sauerstoff und den Atomen im Molekül des Plasmas das charakteristische Merkmal des lebendigen, thierischen Protoplasmas ist. Möglich, dass in demselben gleichzeitig noch andere chemische Processe, wie Condensationen oder Hydratationen, stattfinden und dass, wenn die dadurch entstandenen Producte bei Ausschluss von Sauerstoff nicht wegoxydirt und als $CO_2$ entfernt werden, dies die Ursache des Absterbens des Protoplasmas ist. Sicher ist es, dass, wenn das thierische Plasma zu athmen aufhört, es in kürzerer oder längerer Zeit in den inerten oder todten Zustand übergeht. Ob das lebendige Plasma einzig und allein aus einem labilen Eiweissmolekül, also einem einzigen chemischen Individuum besteht, oder ob die Mitbetheiligung der anderen in jeder Zelle constant vorkommenden Substanzen, wie Lecithin, Fett, unorganische Materien u. s. w., an den chemischen Umsetzungen zum Leben unerlässlich ist, dies bleibt wohl noch längere Zeit eine offene Frage.

Wir haben oben die Nothwendigkeit des Sauerstoffs zum Leben der thierischen elle besonders hervorgehoben, weil uns Zellen bekannt sind, die auch bei völligem auerstoffausschluss leben können. Es sind dies die alkoholische Gährung bewirkende efe und die anaëroben Formen der Spaltpilze. Wohl bilden diese einzelligen rganismen Kohlensäure wie das lebendige Plasma der Thiere. Sie entnehmen aber n zur Oxydation nöthigen Sauerstoff, wenn ihnen kein atmosphärischer zu Gebote eht, entweder der Nährsubstanz selber, oder sie zerlegen das Wasser in Wasserstoff

[1]) Siehe hierüber Th. W. Engelmann, Physiologie der Protoplasma- und Flimmer-ewegung in Hermann's Handb. d. Physiologie 1, 362 u. 400.

und Hydroxyl. Auch gewisse pflanzliche Zellen können für kurze Zeit des Sauerstoffes entbehren, ohne sofort abzusterben, wie dies aus den bekannten Versuchen von Bellamy und Lechartrier hervorgeht, wonach frische Früchte bei Sauerstoffausschluss in einer Kohlensäureatmosphäre, ähnlich wie die Hefe aus Zucker, Alkohol bilden. Dass auch das thierische Plasma bei Sauerstoffmangel und namentlich bei niedrigen Temperaturen nicht sofort abstirbt, geht aus den Versuchen Pflüger's hervor, wonach Frösche bei absolutem Sauerstoffmangel viele Stunden lang leben können und gleichzeitig Kohlensäure ausscheiden. Aber wie die oben citirten Versuche Kühne's und Engelmann's zeigen, ist das Plasma der thierischen Zellen bei Ausschluss des Sauerstoffs für die Länge nicht lebensfähig und darin besteht ein wesentlicher Unterschied zwischen dem Leben der anaëroben Spaltpilze und dem der thierischen Zellen.

Hoppe-Seyler hat den unglücklichen Versuch gemacht, die Lebenserscheinungen höherer Thiere durch die Fäulniss zu erklären. Nach ihm „soll (!) die Art der chemischen Processe bei der Fäulniss und im Leben (scl. der Thiere) übereinstimmen. Die Oxydationen in den Geweben kommen dadurch zu Stande, dass in den lebendigen Zellen Wasserstoff gebildet wird. Aber nur wo kein Sauerstoff dazu tritt, findet Wasserstoffentwickelung statt. Bei hinreichendem Sauerstoffzutritt wird kein Wasserstoff frei, sondern er setzt sich mit dem molekularen Sauerstoff zu Wasser und atomistischem Sauerstoff um ($H_2 + O_2 = H_2O + O$), welcher letztere die Oxydationen bewirkt".

Wäre die Hypothese Hoppe-Seyler's richtig, so müsste consequenterweise bei fehlendem Sauerstoff, ähnlich wie in den Lebensprocessen der Spaltpilze, auch in den Zellen der Thiere Wasserstoff frei werden. Dies ist aber nicht der Fall. Wie die eben erwähnten Versuche Pflüger's[1]) zeigen, können Frösche bei niedrigerer Temperatur viele Stunden ohne jeden Sauerstoff leben, wobei sie Kohlensäure ausscheiden, aber von freiwerdendem Wasserstoff geschieht bei Pflüger keine Erwähnung. Valentin[2]) liess Frösche im abgeschlossenen Behälter mit der 5- bis $6^1/_2$ fachen Luftmenge ihres Rauminhalts längere Zeit bei Zimmertemperatur verweilen. In einem Versuche verzehrte der Frosch nach 29 Stunden fast allen Sauerstoff, so dass die Endluft nur 1.21 Vol.-Proc. Sauerstoff und 17.01 Vol.-Proc. Kohlensäure enthielt. Diese Luft enthielt aber keine Kohlenwasserstoffe oder Wasserstoff, auf die besonders geachtet wurde.

Dass aber Organismen wie Mycoderma aceti, Schimmelpilze u. s. w., welche in sauren Nährlösungen leben und gerade sehr intensive Oxydationen bewirken, nascirenden Wasserstoff bilden sollten, hält selbst Hoppe-Seyler[3]) für unwahrscheinlich und auch er sieht sich zu der Annahme genöthigt, dass diese Organismen „noch andere Spaltungsproducte bilden müssen, die den Sauerstoff zu activiren vermögen".

Die Fäulniss ist nur eins der mannigfachen Mittel und Wege, die den verschiedenen Formen des lebendigen Protoplasmas, Oxydationen zu bewirken, zu Gebote stehen. Wir wiederholen, es ist ungerechtfertigt, die chemischen Processe in

[1]) Pflüger's Archiv **10**, 251.

[2]) Zeitschr. f. Biologie (1878) **14**, 390.

[3]) Dessen physiologische Chemie, S. 985.

den verschiedensten Zellen des Pflanzen- und Thierkörpers nach dem einzigen Muster der Lebenserscheinungen der Fäulnissbacterien modelliren zu wollen[1]).

Aus allem Vorhergehenden resultirt, dass die Function der die Oxydation bewirkenden Zellen zunächst darin besteht, sehr leicht oxydirbare, stark reducirende Materien zu bilden, unter welchen, wenn nicht als die einzige, so doch als die hauptsächlichste, das aus labilem Eiweissmolekül bestehende Plasma zu betrachten ist. Dieses Eiweissmolekül muss ebenso wie etwa Kupferoxydul oder Benzaldehyd schon durch molekularen Sauerstoff oxydirbar sein und gleichzeitig atomistischen Sauerstoff abspalten, wodurch im Zellinhalt vorhandene, durch molekularen Sauerstoff nicht verbrennbare Substanzen, ähnlich wie in dem Versuche mit Kupferoxydul das Benzol zu Phenol, oxydirt werden. Ausser den Aldehyden kennen wir in der organischen Chemie eine Reihe von Substanzen, welche ebenso leicht oder noch leichter durch den molekularen Sauerstoff oxydirt werden, so z. B. die mehratomigen Phenole und namentlich die Leukoverbindungen der zahlreichen Farbstoffe. Alle diese Oxydationen verlaufen viel rascher in alkalischer Lösung und zweifellos ist die Gegenwart des Alkalis für die Oxydation in thierischen Zellen nothwendig, wie dies schon aus den bekannten Untersuchungen Wöhler's[2]) hervorgeht. Pflanzensäuren, als solche dem menschlichen oder thierischen Organismus zugeführt, gehen zum grössten Theil unverändert in den Harn über, während die gleichen Säuren, in Form ihrer Alkalisalze verabreicht, zu kohlensaurem Alkali verbrannt werden. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangte J. Munk[3]) in seinen Versuchen über die Oxydationen bei den Herbivoren. Wird beim Pferd durch Zufuhr anorganischer Säuren die Alkalescenz des Blutes und der Gewebe so weit herabgedrückt, dass es, wie beim Carnivoren, zur Ausscheidung sauren Harns kommt, so wird vom eingeführten Phenol

[1]) In seinem Handbuch der physiol. Chemie S. 994 sagt Hoppe-Seyler von mir, dass ich den Gährungswasserstoff als einen anders wirkenden Körper, als den chemischen Wasserstoff ansehe. Der von Hoppe-Seyler herangezogene Passus lautet wörtlich: „Dass der fermentative Wasserstoff reducirend wirke, ist mir wohl bekannt. Nur bin ich mit Fitz einverstanden, dass es nicht richtig ist, dem Gährungswasserstoff so weitgehende Reductionswirkungen zuzuschreiben, wie dies von gewisser Seite geschieht." (Journ. prakt. Chem. [2] **23**, 94. — Dieser Band S. 566.)

Jeder Leser wird einsehen, dass ich hiermit nur die Wirkungsenergie des Gährungswasserstoffs im Vergleich zu der bei anderen chemischen Processen entstehenden Wasserstoffs nicht gleichgestellt wissen will; denn es ist jedem einigermaassen routinirten Chemiker bekannt, dass viele Substanzen, welche z. B. nascirender Wasserstoff aus Zinn und Salzsäure reducirt, durch nascirenden Wasserstoff aus Natriumamalgam nicht angegriffen werden. Diese Thatsache sucht Tommasi (Moniteur scientif. [3] **8**, 829) dadurch zu erklären, dass je nach der Substanz, aus welcher nascirender Wasserstoff entwickelt wird, gleichzeitig Wärmewirkungen stattfinden, welche dem entwickelten Wasserstoff eine grössere oder geringere Anzahl von Calorien verleihen. Trotz Hoppe-Seyler bleibt die Thatsache bestehen, dass der nascirende Wasserstoff je nach dem Material, woraus er entwickelt wird, verschiedene Reductionsenergie hat; und sein emphatischer Ausspruch: „Nencki stellt sich auf einen Standpunkt, der in Deutschland durch die schönen Arbeiten von Wöhler und Liebig schon vor vierzig Jahren überwunden wurde", ist daher ungerechtfertigt und wohl nicht bona fide für den der Sache unkundigen Leser berechnet. Nencki.

[2]) Zeitschr. f. Physiol. von Tiedemann und Treviranus **1**, 138.

[3]) J. Munk, Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft zu Berlin. 17. August 1881.

kaum $^3/_4$ so viel oxydirt, als sonst in der Norm. Wie Loew[1]) mit Recht hervorhebt, dürfte die Kenntniss der bis jetzt noch nicht dargestellten Aldehyde von Amidosäuren von grossem Werthe für die Beurtheilung der molekularen Structur des lebendigen Protoplasmas werden. Voraussichtlich sind sie in freiem Zustande nicht existenzfähig, indem sie im Entstehungszustande durch Anhydridbildung und Condensation in complexere Moleküle übergehen werden. Schon die Amidoketone der Fettreihe scheinen nicht darstellbar zu sein. Die sogenannten Nitrosoacetone von V. Meyer[2]), mit nascirendem Wasserstoff behandelt, gehen nicht in die Amidoketone, sondern unter Verdoppelung des Moleküls in die „Ketine" über. Dagegen sind in der aromatischen Reihe das Amidoacetophenon, das Amidopropiophenon und Amidoresacetophenon in freiem Zustande bekannt. Viel mehr Aussicht auf Erfolg dürften Versuche zur Darstellung solcher Amidoaldehyde haben, in welchen der eine oder die beiden Wasserstoffe des Amids durch Säure- oder Alkoholradicale ersetzt sind.

Wie man sieht, sind die zu beantwortenden Fragen zunächst von den Fortschritten der Chemie abhängig, so von der Auffindung neuer, durch molekularen Sauerstoff oxydirbarer Materien, von der genauen Erkenntniss der dabei stattfindenden Umsetzungen, sowie von der Erforschung der Art und Weise, wie das Eiweissmolekül aus seinen nächsten Spaltungsproducten aufgebaut ist. Bis wir den Oxydationsmechanismus in einer thierischen Zelle durch eine einfache Umsetzungsgleichung präcisiren können, müssen alle diese schwierigen Vorfragen auf dem Wege der chemischen Experimente beantwortet werden. Allein vieles die physiologische Oxydation betreffende ist durch die Arbeiten früherer Forscher aufgeklärt worden und auch die Erkenntniss der noch zu erledigenden Fragen ist schon ein halber Erfolg. *"Ἔστι δὲ τοῖς εὐπορῆσαι βουλομένοις προὔργου τὶ διαπορῆσαι καλῶς· ἡ γὰρ ὕστερον εὐπορία λύσις τῶν πρότερον ἀπορουμένων ἐστί, λύειν δ' οὐκ ἔστιν ἀγνοοῦντας τὸν δεσμόν."* (Est autem operae pretium aliquid facultatis habere volentibus, bene dubitare. Nam posterior facultas, solutio eorum est quae ante dubitata fuerunt: solvere autem non est, quum nodus ignoretur. Aristoteles. Metaphysicorum lib. II, cap. I.)

## II.

Es konnte nicht fehlen, dass im Laufe dieser Untersuchungen unsere Aufmerksamkeit auf die merkwürdige Störung im menschlichen Stoffwechsel gelenkt wurde, bei welcher fast die gesammte Menge der eingeführten Kohlehydrate nicht verbrannt, sondern unverändert durch den Harn ausgeschieden wird — wir meinen die Zuckerharnruhr. Die uns als Nahrung dienenden Kohlehydrate werden durch die Verdauungssäfte zum grössten Theil in Dextrose übergeführt. Da wir gefunden haben, dass schon bei einem Gehalt an Alkalicarbonat von 0.25 die Dextrose, wenn auch langsam, durch den Luftsauerstoff oxydirt wird und die Intensität der Oxydation mit steigendem Alkaligehalt zunimmt, so war es von Interesse, zu erfahren, wie bei möglichst gleichmässiger Nahrung und gleichzeitig gesteigertem Alkaligehalt der Gewebe die Zuckerausscheidung beim Diabetes sich gestalten wird. Nach den Ver-

[1]) Die chemische Ursache des Lebens, S. 5.

[2]) Ber. **15**, 1047 und 1165.

suchen Wöhler's werden pflanzensaure Alkalien zu kohlensauren oxydirt, weshalb auch der darauf hin gelassene Harn Alkalicarbonate enthält und alkalisch reagirt. Da von den Kranken pflanzensaure Alkalien viel besser als kohlensaure vertragen werden, so haben wir in mehreren Fällen von Diabetes die Zuckerausscheidung nach Gebrauch von citronensaurem Natron untersucht. Das Ergebniss war, dass in Fällen von schwerem Diabetes ohne anderweitige Complicationen bei gemischter Kost das citronensaure Alkali keinen Einfluss auf die Zuckerausscheidung hat. Gleichzeitig sahen wir aber, dass die 24 stündige Harnmenge der Patientin, an der wir diese Untersuchungen angestellt haben, constant sauer reagirte, trotzdem sie täglich 20 g neutrales citronensaures Natron in refracta dosi erhielt. Unsere erste Vermuthung war, dass die Diabetiker pflanzensaure Alkalien, ebenso wie die Dextrose, nicht zu oxydiren vermögen und deshalb das unverändert in den Harn übergehende pflanzensaure Alkali die normale saure Reaction des Harns nicht verändert. Die Kranke erhielt hierauf 20 g doppeltkohlensaures Natron täglich. Der Harn wurde alkalisch, aber die ausgeschiedene Zuckermenge wurde kaum merklich vermindert. Es wird dies am besten illustrirt durch die Mittheilung der erhaltenen Zahlen in einem Falle von schwerem Diabetes.

Die Patientin M. P., ein 16 jähriges Mädchen, ist vor 3½ Monaten erkrankt. Der quälende Durst und die Polyurie veranlassten sie, ärztliche Hülfe zu suchen, worauf sie in die hiesige medicinische Klinik aufgenommen wurde. Die Untersuchung der Kranken ergab, dass sie an der schweren Form der Diabetes litt, jedoch ohne jedwede Complication. Der stark zuckerhaltige Harn der Kranken färbte sich mit Eisenchlorid intensiv roth und wir haben später daraus auch Aceton dargestellt. Die Kranke wurde zunächst auf gemischte Kost gesetzt und die täglich ausgeschiedene Zuckermenge mittelst eines Wild'schen Polaristrobometers bestimmt.

| Versuchstag | Harn in 24 Stdn. ccm | Zucker in Proc. | Zucker in 24 Stdn. g | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 4300 | 9.92 | 426.5 | Reaction des Harnes sauer, stark rothe Färbung durch Eisenchlorid. |
| 2 | 5800 | 8.92 | 517.8 | |
| 3 | 5900 | 8.63 | 509.1 | |
| 4 | 5500 | 8.82 | 485.5 | |
| 5 | 5500 | 8.72 | 480.1 | |
| | | 20 g citronensaures Natrium pro Tag. | | |
| 6 | 6400 | 8.43 | 539.6 | Die 24 stündige Harnmenge reagirt sauer, stark rothe Färbung durch Eisenchlorid. Durch Destillation des Harnes wurde Aceton erhalten. |
| 7 | 6600 | 8.33 | 549.9 | |
| 8 | 7800 | 7.93 | 619 0 | |
| 9 | 6900 | 8.53 | 503.3 | |
| 10 | 7000 | 7.93 | 555.5 | |
| 11 | 7900 | 7.44 | 588.7 | |
| 12 | 7000 | 7.73 | 541.6 | |
| | | 20 g saures kohlensaures Natrium pro Tag. | | |
| 13 | 6500 | 7.53 | 490.0 | Reaction schwach alkalisch, der Alkaligehalt des Harnes wurde an den vier Tagen durch Titration mit Normalweinsäure bestimmt und schwankte zwischen 4.57 g bis 5.36 g $CO_3Na_2$ pro Tag. |
| 14 | 6800 | 7.14 | 485.6 | |
| 15 | 6400 | 7.34 | 469.8 | |
| 16 | 7300 | 7.14 | 521.3 | |

Um zunächst zu ermitteln, ob von den Diabetikern pflanzensaure Alkalien verbrannt oder unverändert ausgeschieden werden, wurden der Kranken nach zweitägiger Pause, während welcher der Harn seine normale saure Reaction annahm, 20 g gährungsmilchsaures Natrium pro die und zwar in 2 Portionen zu 10 g Morgens und Mittags verabreicht. Wir haben die Milchsäure der Citronensäure vorgezogen, weil sie viel leichter als die letztere aus dem Harn zu isoliren war und nach Lehmann[1]) die Milchsäure sich genau so wie die Pflanzensäure im Organismus verhält. Auf den Genuss von 2 Drachmen milchsauren Natriums fand Lehmann den Harn schon nach 2 Stunden alkalisch. Ferner injicirte er einem Hunde in die V. jugularis eine Drachme milchsaures Kali und fand nach einer Stunde den Harn dieses Hundes bereits alkalisch. Auch jetzt, nach Gebrauch von 20 g milchsauren Natrons, reagirte der in 24 Stunden geleerte, zusammengemischte Harn der Patientin sauer. Wir hatten hier die Vorsicht, den unmittelbar nach Gebrauch des milchsauren Salzes in den ersten 3 bis 4 Stunden gelassenen Harn auf seine Reaction zu prüfen. Diese Harnportionen waren nun stets alkalisch; aber der schon in der 6. bis 9. Stunde gelassene Harn reagirte wieder sauer. Durch Verabreichung von pflanzensauren Alkalien wird also der Harn bei Diabetikern, ähnlich wie bei Gesunden, alkalisch gemacht und die kurze Dauer der Alkalescenz würde eher für eine gesteigerte Intensität der Oxydation sprechen. Wir haben trotzdem den Harn von 4 Tagen, nachdem die Kranke 80 g milchsaures Natron erhalten hatte, auf Milchsäure untersucht. Der Harn wurde auf vielen Schalen rasch zu Syrup verdunstet, der Rückstand mit $SO_4H_2$ angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Die vereinigten Auszüge hinterliessen nach Abdestilliren des Aethers einen syrupösen Rückstand, der nach Zusatz von wenig Wasser krystallinisch erstarrte. Die Krystalle waren Hippursäure und wogen nach dem Trocknen 2.6 g. Die von den Krystallen abfiltrirte Mutterlauge wurde mit kohlensaurem Blei gekocht, filtrirt und zur Trockne verdunstet. Der jetzt erhaltene Rückstand wurde mit wenig Wasser aufgenommen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat von Schwefelblei mit Zinkhydroxyd gekocht. Die von überschüssigem Zinkoxyd filtrirte Flüssigkeit, auf dem Wasserbade verdunstet, hinterliess einen minimalen Rückstand, aus dem sich beim Stehen über $SO_4H_2$ eine unwägbare Menge glänzender, tafelförmiger Kryställchen abgeschieden hat; allem Anscheine nach hippursaures Zink. Milchsäure war in dem Harne nicht vorhanden und der Diabetiker verbrennt demnach ebenso wie der Gesunde pflanzensaure zu kohlensauren Alkalien. Wir haben die interessante Thatsache, dass beim Diabetes die Intensität der Oxydationsprocesse nicht im mindesten herabgesetzt ist, noch auf eine andere Weise bestätigen können. In einer vor Kurzem von einem von uns[2]) publicirten Arbeit wurde gezeigt, dass die aromatischen Kohlenwasserstoffe, und namentlich das Benzol, im Organismus des Menschen oder des Hundes nur langsam und schwer oxydirt werden. Nach Verabreichung von wenigen Grammen Benzol verbleibt dasselbe Tage lang in den Geweben und nur ein kleiner Bruchtheil wird zu Phenol resp. Brenzcatechin und Hydrochinon oxydirt. Es war nun von

[1]) Wagner's Handwörterbuch der Physiologie. Braunschweig 1844, **2**, 13.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**, 325. — Dieser Band S. 508.

Interesse, zu erfahren, ob in den Geweben des Diabetikers Benzol ebenfalls zu Phenol oxydirt wird. Nachdem wir constatirten, dass der Harn der Kranken kein Phenol enthielt, erhielt sie in einem Tage 6 g Benzol in zwei Gaben, Morgens und Mittags. Die Patientin fühlte sich darauf unwohl, klagte über Uebelkeit und erbrach nach der zweiten Dose. Die darauf gelassene zusammengemischte Harnmenge von 24 Stunden betrug 5600 ccm. Ein Liter des Harns wurde mit $SO_4H_2$ angesäuert und so lange destillirt, bis im Destillate durch Brom kein Phenol mehr nachweisbar war. Aus den vereinten Destillaten erhielten wir 0.7258 g Tribromphenol, was auf 24 stündige Harnmenge berechnet 1.3808 g Phenol entspricht. Eine so grosse Phenolmenge erhielten wir bei den früheren Versuchen an gesunden Menschen nicht. Auch in den nächsten Tagen enthielt der Harn der Kranken reichlich Phenol, das erst am fünften Tage völlig verschwand. Von da ab wurde die Patientin auf Fleischkost und Carlsbader Brunnen gesetzt und ihre Krankengeschichte hat hier weiter kein Interesse. Ihr Zustand besserte sich, sie nahm an Körpergewicht zu und wurde nach zwei Monaten mit geringen Zuckermengen im Harn aus dem Spitale entlassen. Auch das milchsaure Natron hatte bei gemischter Kost keinen Einfluss auf die Zuckerausscheidung, wie aus folgenden Zahlen ersichtlich:

| Versuchs-tag | Harn in 24 Stdn. Proc. | Zucker in Proc. | Zucker in 24 Stdn. g | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| | | | Nichts gegeben. | |
| 17 | 6900 | 7.14 | 492.8 | |
| 18 | 6195 | 7.73 | 479.7 | |
| | | | 20 g milchsaures Natron pro Tag. | |
| 19 | 6750 | 7.93 | 535.6 | Der gemischte Harn von 24 Stdn. reagirt sauer und nur der in den nächsten 3 bis 6 Stdn. nach der Einnahme des milchsauren Salzes reagirt alkalisch. Im Harne kein Phenol. |
| 20 | 6400 | 7.93 | 507.9 | |
| 21 | 6900 | 7.93 | 547.5 | |
| 22 | 7200 | 7.63 | 549.9 | |
| | | | Nichts gegeben. | |
| 23 | 6700 | 7.93 | 531.7 | Im Harne kein Phenol. |
| | | | 6 g Benzol. | |
| 24 | 5600 | 7.52 | 422.1 | Im Harne 1.38 g Phenol. |
| | | | Fleischdiät mit Karlsbader Wasser. | |
| 25 | 3000 | 5.55 | 166.6 | Im Harne viel Phenol. |
| 26 | 2850 | 2.48 | 70.6 | Desgl. |
| 27 | 3000 | 2.38 | 71.4 | Minimale Mengen. |
| 28 | 2650 | 2.77 | 71.6 | Im Harne kein Phenol. |

Das schwer verbrennbare Benzol wird also im Organismus des Diabetikers oxydirt, dagegen der so ausserordentlich durch Hydratations- und Oxydationsmittel zersetzbare Traubenzucker passirt den gleichen Organismus unverändert. Was sind die Ursachen dieses scheinbaren Widerspruchs? — Während die Dextrose unver-

ändert ausgeschieden wird, unterliegt das nächste Spaltungsproduct derselben, die Milchsäure, die schon durch Einwirkung von 0.3 proc. Alkalihydroxydlösung oder Neurin bei der Bruttemperatur aus Traubenzucker entsteht, auch in grösseren Mengen dem Diabetiker zugeführt, einer vollständigen Oxydation. Das gleiche gilt um so mehr von den neben der Milchsäure entstehenden Producten, denn nicht die Milchsäure, sondern die dabei auftretenden Nebenproducte absorbiren in alkalischer Lösung mit grosser Intensität den atmosphärischen Sauerstoff. Der Gehalt des Blutes und wahrscheinlich auch der Gewebe an Alkali ist bei den Diabetikern, wie die Untersuchungen früherer Experimentatoren ergeben haben, nicht kleiner als wie bei Gesunden und durch Zufuhr von mehr Alkalicarbonaten wird die Zuckerausscheidung kaum merklich vermindert. Wir zweifeln nicht daran, dass, wenn der Diabetiker Zucker, genau so wie die verdünnten Alkalihydroxyde oder Ammoniumbasen in Milchsäure zu spalten vermöchte, er ihn hernach auch vollständig oxydiren würde.

Dass der Zucker, einem lebenden Thiere im langsamen Strome in eine Körpervene injicirt, zum grössten Theile unverändert wieder im Harne erscheint, ist eine vielfach bestätigte Thatsache. Injicirt man aber, wie dies zuerst Claude Bernard zeigte und Naunyn sowie seine Schüler es bestätigten, die gleiche Zuckerlösung und ceteris paribus in eine Mesenterialvene, so erscheint entweder gar kein Zucker oder nur minimale Mengen davon im Harn. Man hat früher angenommen, dass der in die Aeste der Pfortader injicirte Zucker in der Leber als Glycogen zurückgehalten werde. Aus den Versuchen Heidenhain's[1]) geht aber hervor, dass nur ein geringer Theil des Zuckers zu Leberglycogen wird, der grössere Theil dagegen eine anderweitige Umwandlung erleidet. Die von dem Verdauungscanale der Leber zugeführten löslichen Kohlehydrate werden in den Leberzellen in das in Wasser schwer lösliche Glycogen verwandelt, dort als solches zurückgehalten, von wo aus es nur allmählich in die Blutbahn übertritt und wieder in Zucker umgewandelt wird[2]). Es ist zweifellos, dass die Regulirung dieses Ueberganges des Zuckers in die oxydirenden Gewebe von wesentlicher Bedeutung für die vollständige Verbrennung ist. Denn auch pflanzensaure Alkalien, auf einmal in grösserer Menge dem Organismus zugeführt, verbrennen nicht vollständig, sondern erscheinen im Harne zum Theil unverändert wieder[3]). Aber beim Diabetiker, der auch bei ausschliesslicher Fleischkost, also bis auf das Minimum reducirter Kohlehydratzufuhr, Zucker ausscheidet, kann der Uebergang des unverbrannten Zuckers in den Harn durch die Hypothese von gestörtem Regulationsverhältniss nicht erklärt werden. Warum der Zucker in dem sonst so kräftig oxydirenden Organismus des Diabetikers nicht als solcher verbrannt wird, dafür wissen wir keine Erklärung. Nicht minder räthselhaft ist die Thatsache, dass die gleichen Pflanzensäuren, die dem Organismus in Form ihrer Alkalisalze in nicht allzugrosser Menge auf einmal zugeführt, vollständig zu kohlen-

[1]) Maly's Jahresber. 1874, S. 291.

[2]) Siehe Naunyn, Beitr. zur Lehre vom Diabetes mellitus. Archiv f. experim. Pathologie u. Pharmakologie. 1874.

[3]) Vergl. z. B. G. Meissner u. C. U. Shepard, Untersuchungen über das Entstehen der Hippursäure im thierischen Organismus. Hannover 1866, S. 108.

sauren Alkalien verbrennen, aber in der Form als freie Säuren verabreicht, zum grössten Theil unoxydirt als Alkalisalze ausgeschieden werden. In den Geweben der Thiere findet sich je nach der Thierspecies mehr oder weniger disponibles Alkali, weshalb auch freie organische Säuren, dem Organismus zugeführt, neutralisirt und auch verbrannt werden. Erst bei grösserer Zufuhr der freien Säure, wo vielleicht, um sie zu neutralisiren, das disponible Alkali nicht ausreicht, sondern dem lebendigen Plasma entzogen wird, gehen die Säuren unverändert in den Harn über. Danach scheint es, als ob die Umwandlung unserer Nahrungsstoffe in Säuren, wonach sie durch das Alkalicarbonat des Blutes und der Gewebe zu neutralen Salzen werden, eine wesentliche Bedingung für ihre Verbrennung in dem Plasma der Gewebe ist. Wenn wir nun bedenken, mit welcher Leichtigkeit und durch wie gelinde Einwirkung Dextrose in Milchsäure übergeführt wird, so ist der Gedanke sehr nahe liegend, dass die Ursache des Diabetes mellitus in dem Unvermögen des Organismus: Traubenzucker in Milchsäure oder auch andere Säuren, wie z. B. die Glycuronsäure Schmiedeberg's zu verwandeln, liegt. Diese Vorstellung über das Wesen der Zuckerharnruhr ist nicht neu. Von ähnlichen Prämissen wie wir ausgehend, sprach Schultzen[1]) die Ansicht aus, dass beim Diabetes der Zucker deshalb unverändert ausgeschieden wird, weil das Ferment fehlt, das den Zucker in der Norm in Milchsäure und Glycerinaldehyd spaltet. Die Ansichten Cantani's[2]) über die Ursache des Diabetes sind nahezu die gleichen und es ist gewiss interessant, dass ursprünglich, ohne jede Absicht, Untersuchungen über das Wesen der Zuckerharnruhr anzustellen, wir nur durch die Ergebnisse unserer Arbeit zur gleichen Ansicht über die Ursache dieser Krankheit gelangten. — Unsere nächste Aufgabe war, nach dem etwaigen Ferment zu suchen, das Zucker in Milchsäure verwandelt, sowie nach dem Orte seiner Entstehung. Es wurden successive Pankreas, Leber, Magen- und Darmmucosa klein zerhackt mit 5 proc. Traubenzuckerlösung unter Zusatz minimaler Mengen Soda bei der Bruttemperatur digerirt. Um die Fäulniss abzuhalten, erhielt die Zuckerlösung noch 0.5 Proc. Phenol. Das Ergebniss war stets ein negatives. Die Flüssigkeit blieb schwach alkalisch und der Zucker war unverändert.

Von Hammarsten[3]) rührt die Angabe her, dass in der Magenschleimhaut ein milchsäurebildendes Ferment enthalten sei. Nach unseren Versuchen ist diese Angabe irrig und die Aufklärung des Irrthums sehr einfach. Um die Wirkung der Magensäure und des Pepsins auf den Milchzucker aufzuheben, hat Hammarsten Milchsäure mit Magenmucosa und verdünnter Natronlauge digerirt. Wie aber aus unseren Versuchen bekannt, wird Milchzucker ebenso wie die Dextrose schon durch 0.5 proc. Alkalihydroxydlösungen in Milchsäure verwandelt und es ist anzunehmen, dass die in den Versuchen Hammarsten's entstandene Milchsäure nicht von der Wirkung des Labschleims, sondern von der verdünnten Natronlauge herrührt. Wir wollen indessen auf Grund unserer bisherigen negativen Resultate die Frage nach der Existenz eines Milchsäureferments noch nicht als erledigt ansehen. Möglich,

[1]) Berliner klin. Wochenschr. 1872. Nr. 35.

[2]) Der Diabetes mellitus von Arnaldo Cantani. Deutsch von S. Hahn. Berlin 1877.

[3]) Maly's Jahresber. 1872, S. 124.

dass durch fortgesetzte Untersuchungen ein solches doch noch aufgefunden wird. Wir halten es für wahrscheinlicher, dass die Umwandlung des Zuckers in Milchsäure nicht mittelst eines extrahirbaren Fermentes, sondern durch die chemischen Umsetzungen in der lebendigen Zelle geschieht und dass, ähnlich wie in den Zellen der Labdrüsen freie Salzsäure, so in den Zellen eines anderen Organs freies Alkalihydroxyd oder eine wie das letztere wirkende Ammoniumbase entsteht.

Unter den Biologen dürfte A. Béchamp der einzige sein, dem die Erklärung der Milchsäurebildung im lebenden Thierkörper nicht schwer fällt. Nach ihm bewirken die in den Geweben enthaltenen Spaltpilzsporen, von ihm „Mikrozymas“ genannt, diese Zersetzung. Bei allem Bestreben, objectiv zu sein, können wir uns nicht zu der Ansicht bekehren, dass diese „Mikrozymas“ die dienstbaren Gehülfen unserer Gewebe sein sollen. Vielmehr halten wir noch immer dafür, dass erst mit dem Tode unserer Gewebe für sie das Leben beginnt. Nach welchem chemischen Mechanismus die Mikrozymas aus Zucker Milchsäure bilden, dafür würde auch Béchamp keine Erklärung geben können.

---

# Ueber das Vorkommen von Milchsäure im Harn bei Krankheiten und die Oxydationen in den Geweben der Leukämischen

von

**M. Nencki** und **N. Sieber.**

Journ. prakt. Chem. 26, 41.

Die von uns constatirte Thatsache, dass milchsaure Alkalien von Diabetikern und wie wir uns überzeugt haben auch von Gesunden, selbst in Dosen von 20 g auf einmal verabreicht, vollständig verbrannt werden, steht im Widerspruch mit den Angaben früherer Autoren, wonach Milchsäure auch im normalen Harne sich findet. Lehmann, Brücke und zuletzt Langendorff und Mommsen [1]) geben an, durch die Untersuchung des Harns gesunder Personen von dem Vorkommen der Säure im nicht pathologischen Harne sich überzeugt zu haben. Nach Spiro findet sich Milchsäure im Harne Gesunder nach starken Muskelanstrengungen. Wir sahen uns deshalb veranlasst, den in der Literatur vorhandenen Angaben über die Milchsäure im Harn, soweit sie uns zugänglich waren, genauer nachzuforschen. Das Ergebniss davon war, dass nur in zwei Krankheiten, nämlich bei acuter Phosphorvergiftung von Schultzen und Riess [2]) und bei Trichinose von Wiebel [3]) aus dem Harne Milchsäure dargestellt und analysirt, also mit Sicherheit nachgewiesen wurde. Die

---

[1]) Virchow's Archiv **69**, 467.

[2]) Annalen d. Charité-Krankenhauses zu Berlin. **15** (1869).

[3]) Ber. **4**, 130.

Angaben Spiro's[1]), der in Hoppe-Seyler's Laboratorium arbeitete, beruhen auf folgendem analytischen Nachweise: „Die nach dem Kochen der ätherischen Auszüge des Harns mit Zinkhydroxyd und Eindampfen des Filtrats erhaltenen Rückstände wurden mit kleinen Mengen Alkohol und Aether gewaschen; es ist aber sehr schwer, die Substanzen von harzartigen Stoffen, die dabei erhalten werden, zu befreien; ich kann auch nicht mit Gewissheit sagen, ob ich eine krystallisirte Substanz vor mir hatte; in Portion AA' schien es der Fall zu sein. Portion A + A' (2025 ccm) lieferte 0.073 g Substanz mit 13.7 Proc. Krystallwasser und 18.3 Proc. Zn (entspricht 0.050 milchsaurem Zink). Portion B + B' (2825 ccm) lieferte 0.032 Substanz mit 6.2 Proc. Krystallwasser und 23.0 Proc. Zn."

Spiro kann also nicht einmal sagen, ob die minimalen und für Analysen jedenfalls unzureichenden Mengen seines Zinksalzes krystallinisch waren. Milchsaures Zink enthält 26.75 Proc. Zn. Spiro fand in seinen Präparaten 18.3 resp. 23.0 Proc. Zn. Er selbst bezeichnet seine Analysen als „Probeversuch" und legt naiverweise das Hauptgewicht auf die erste Krystallwasserbestimmung, welche „so ziemlich auf fleischmilchsaures Zink stimmt" (gefunden 13.7 Proc., berechn. 12.9 Proc.). Allem Anscheine nach hat Spiro benzoësaures oder hippursaures Zink mit Harz vermengt analysirt und wir würden nicht auf diese Angabe hin auch nur die Wahrscheinlichkeit des Vorkommens der Milchsäure im Harn nach Muskelanstrengung als erbracht ansehen, wie dies Salkowski und Leube[2]) thun.

Alle übrigen Angaben über Milchsäure im Harne bei Gesunden und Kranken beschränken sich auf nichts beweisende Darstellung von Krystallen durch Kochen des Aetherextractes mit Zinkhydroxyd und deren mikroskopische Besichtigung, nachdem der Harn vorher in mehr oder weniger zweckmässiger Weise verarbeitet wurde. Auf derartigem Nachweise beruhen die Angaben von Moers und Muck[3]) und Langendorff und Mommsen[4]) über Milchsäure im Harne bei Osteomalacie, sowie die von Jacubasch[5]) über das Vorkommen von Milchsäure im Harne von Leukämischen, und so erklären sich die widersprechenden Ansichten hierüber, denn Schmutziger[6]) suchte vergeblich nach Milchsäure im Harne bei puerperaler Osteomalacie und Salkowski[7]) konnte selbst in grossen Mengen leukämischen Urins (in dem von 5 Tagen vereinten) keine Milchsäure auffinden, obgleich er sich von der Zweckmässigkeit seiner Untersuchungsmethode durch Controlversuche überzeugte.

Um uns jedoch selbst Aufklärung über das Vorkommen von Milchsäure bei Krankheiten zu verschaffen, haben wir bei einer Patientin mit lienaler Leukämie die nachfolgenden Untersuchungen angestellt. Professor Lichtheim, welcher mit viel Interesse uns dabei unterstützte, theilte uns über den Fall selber Folgendes mit:

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **1**, 118.
[2]) Die Lehre vom Harn, S. 125 und 347.
[3]) Deutsches Archiv für klin. Med. **5**, 485 (1869).
[4]) Virchow's Archiv **69**, 452.
[5]) Das. **43**, 212.
[6]) Centralbl. f. d. med. Wissenschaften 1875, S. 946.
[7]) Virchow's Archiv **52**, 58.

Die Patientin M. F., 23 Jahre alt, ist seit einem Jahre in der medicinischen Klinik in Behandlung. Schon bei der Aufnahme zeigte sich, obgleich das Allgemeinbefinden noch gut war, dass dieselbe einen sehr grossen Milztumor hatte, welcher den Rippenbogen um mehr als handbreit überragte. Die Zahl der weissen Blutzellen war erheblich vermehrt. Wiederholte Zählungen ergaben auf sieben rothe ein weisses Blutkörperchen. Während der ersten Woche ihres Spitalaufenthaltes wuchs der Tumor ausserordentlich rasch. Nach 5 Wochen reichte die Spitze der Milz bis nahezu an das Poupart'sche Band und überragte nach rechts hin die Mittellinie. Der grösste Durchmesser betrug damals 30 cm. Nachher wuchs der Tumor langsamer. Gegenwärtig beträgt sein grösster Durchmesser 38 cm; auch die Zahl der weissen Blutzellen hat erheblich zugenommen. Das Verhältniss von rothen zu weissen ist = 2.9 : 1. Das allgemeine Befinden hat sich erheblich verschlechtert. Abmagerung, hochgradige Blässe und hochgradige Muskelschwäche sind vorhanden. Sie zeigt eine hochgradige, doppelseitige, leukämische Retinitis. Nennenswerthe hämorrhagische Symptome sind bei ihr nie beobachtet worden.

Der Harn der Kranken, den wir etwa während 6 Wochen täglich untersuchten, enthielt kein Eiweiss, reagirte sauer und sedimentirte stark. Die Menge des in 24 Stunden ausgeschiedenen Harnstoffs, der nach der Pflüger'schen Methode bestimmt wurde, betrug 18 bis 20 g und schwankte nur wenig; ebenso Kochsalz, wovon die 24 stündige Menge zwischen 9 bis 12 g variirte. Harnsäure war erheblich vermehrt. Durchschnittlich 1 g in 24 Stunden. Im Maximum 1.8 g, im Minimum 0.6 g. Auf Xanthinkörper wurde der Harn nicht untersucht. Zu erwähnen wäre noch, dass das Blut der Kranken, durch einen Lanzettenstich entnommen und sofort mit Lackmuspapier geprüft, alkalisch reagirte.

Es wurde nun zunächst der bei gemischter Kost gelassene Harn von 6 Tagen, etwa 5 Liter, verdunstet und genau so wie in der vorigen Abhandlung angegeben, verarbeitet. Aus der geringen Menge des nach Kochen mit Zinkhydroxyd erhaltenen Rückstandes erhielten wir zwar nach zweitägigem Stehen im Exsiccator über Schwefelsäure vereinzelte Blättchen und nadelförmige Krystalle. Die Nadeln hatten eher das Aussehen von Harnstoff. Sie verschwanden auch, als dem mikroskopischen Präparate ein Tropfen Salpetersäure zugesetzt wurde und statt deren traten undeutliche, gezackte Blättchen auf; auch entwickelte der Rückstand, mit Natronlauge erwärmt, Ammoniak. In der That gehen minimale Mengen Harnstoff, namentlich wenn Rückstände von viel Harn mit grossen Mengen Aether extrahirt werden, in den letzteren über. Milchsaures Zink erhielten wir nicht.

Wir haben diesen Versuch noch einmal wiederholt, und zwar als die Kranke auf ausschliessliche Pflanzenkost gesetzt wurde. In dem Harne war auch jetzt keine Milchsäure zu finden, obgleich wir 6 Liter desselben verarbeiteten.

Der bündigste Beweis aber, dass diese Leukämische keine Milchsäure ausschied, ist die Thatsache, dass sie nach Verabreichung von milchsaurem Alkali dasselbe, genau so wie die Gesunden, vollständig verbrannte. Die Kranke erhielt während 2 Tagen 20 g milchsaures Natrium pro die, in Dosen von 10 g. Der bis dahin stark saure Harn wurde alkalisch und in der darauf gelassenen 48 stündigen Harnmenge gelang es uns nicht, auch nur eine Spur von Milchsäure aufzufinden. Es fiel uns

nur auf, dass, während bei den Diabetischen der schwach saure Harn nach Gebrauch von milchsaurem Natron nur in den ersten Stunden darauf alkalisch reagirte, die 24 stündige Harnmenge der Leukämischen stark alkalisch war und erst in der 30 sten Stunde nach der letzten Aufnahme des milchsauren Salzes die Reaction des gelassenen Harnes wieder sauer wurde.

Die wesentlichste Veränderung bei der Leukämie ist neben dem Milztumor die enorme Vermehrung der weissen Blutzellen im Blute, wodurch auch entsprechend der Hämoglobingehalt desselben herabgesetzt wird. Nach Quincke's[1]) Bestimmungen enthalten bei Gesunden 100 ccm Blut etwa 14.5 g Hämoglobin. In einem Falle von linealer Leukämie enthielt das Blut nur 5.8 Proc. Hämoglobin. Die rothen Blutkörperchen sind nur die Träger des Sauerstoffs zu den Geweben. Da die Oxydationen in dem Plasma der lebendigen Gewebe geschehen und dasselbe bei Leukämischen nicht wesentlich verändert zu sein scheint, so kommt es hauptsächlich darauf an, ob der für die Oxydationen nothwendige Sauerstoff in hinreichender Menge den Geweben zugeführt wird. In den bekannten Versuchen von Pettenkofer und Voit war die Menge des von einem Leukämiker aufgenommenen Sauerstoffs und ausgeschiedener Kohlensäure nicht anders als wie bei einem Gesunden. Bei der acuten Phosphorvergiftung ist der Hämoglobingehalt des Blutes nicht herabgesetzt. Quincke (l. c.) fand in einem Falle von Phosphorintoxication mit tödtlichem Ausgang = 14.9 Proc. und doch gehen in den Harn bei dieser Krankheit ausser Fleischmilchsäure noch Leucin, Tyrosin und peptonartige Materien über. Das Plasma der Gewebe ist wesentlich verändert worden und hat die Fähigkeit, Oxydationen zu bewirken, eingebüsst. Auch bei der Trichinose scheint durch die Ablagerung der Parasiten im Muskelplasma die Oxydationsfähigkeit desselben sehr herabgesetzt zu sein. Der Uebergang der Milchsäure bei Krankheiten in den Harn, der übrigens auch in den beiden letzteren Krankheiten nicht constant ist, wäre demnach in erster Instanz die Folge der aufgehobenen, resp. herabgesetzten Oxydationsfähigkeit des lebendigen Protoplasmas. Von diesem Gesichtspunkte aus betrachtet, wäre es sehr wohl begreiflich, dass bei Kachexien in Folge verschiedenster Krankheiten Milchsäure in den Harn übergehen kann. Wir sind auch weit davon entfernt, zu behaupten, dass ausser bei Trichinose und acuter Phosphorvergiftung Milchsäure im Harne nicht vorkomme, halten aber den Beweis dafür noch nicht für erbracht. Wenn z. B. Langendorff und Mommsen schon beim Verarbeiten von 100 ccm des Harnes Krystalle des milchsauren Zinks „in ziemlich reicher Zahl“ (l. c. S. 466) erhielten, so wäre es doch eine Kleinigkeit, lieber ein Liter des gleichen Urins zu verarbeiten, um das Zinklactat in hinreichender Menge wenigstens für eine Zinkbestimmung darzustellen. Kein physiologischer Chemiker kann zugeben, dass durch das Kochen der ätherischen Harnextracte mit Zinkhydroxyd und die mikroskopische Auffindung rhombischer Krystallnadeln in den eingetrockneten Rückständen der Beweis für das Vorhandensein der Milchsäure geliefert ist. Aus dem angesäuerten Harn gehen in den Aether verschiedene, namentlich aromatische Materien über, deren Zinksalze sehr wohl mit der Milchsäure verwechselt werden können.

[1]) Virchow's Archiv **54**, 537 (1872).

Gerade der Umstand, dass Langendorff und Mommsen schon aus 100 ccm Urin gesunder Individuen milchsaures Zink erhalten haben wollen, macht ihre Angaben höchst unwahrscheinlich.

Um zu sehen, ob unsere sehr kachektische, leukämische Patientin in Bezug auf Oxydationsvermögen in jeder Hinsicht sich gleich den Gesunden verhalte, erhielt die Kranke innerhalb 24 Stunden 2 g Benzol, nachdem wir vorher noch constatirten, dass ihr Harn vor der Benzoleingabe kein Phenol enthielt. Die hierauf gelassene 24 stündige Harnmenge enthielt nur 0.171 g Phenol, also im Verhältniss zu Gesunden eine sehr geringe Menge. Das Auffallendste war aber, dass der in nächstfolgenden 24 Stunden gelassene Harn keine Spur Phenol mehr enthielt. Nach einer Pause von 3 Tagen wurden der Kranken 6 g Benzol pro die in drei Dosen verordnet. Die Patientin erbrach nicht, klagte aber über Magenschmerzen. Die 24 stündige Harnmenge enthielt darauf nur **0.125** g Phenol und schon 20 Stunden nach der letzten Benzolgabe war im Harn kein Phenol mehr. Der Unterschied mit den früher bei Gesunden und der diabetischen Patientin ist höchst auffallend im Vergleich mit den bei der leukämischen Patientin erhaltenen Zahlen. Die Fähigkeit, Benzol zu oxydiren, ist bei der leukämischen Kranken enorm herabgesetzt. Es wird von hohem Interesse sein, zu erfahren, ob dieses Verhalten in allen Fällen von Leukämie sich gleich bleibt und ferner, ob bei acuter Phosphorvergiftung, wo wir allen Grund haben, anzunehmen, dass hier die Oxydation darniederliegt, Benzol überhaupt noch zu Phenol oxydirt werde.

Bern, im Juni 1882.

# Zur Geschichte der basischen Fäulnissproducte

von

**M. Nencki.**

Journ. prakt. Chem. 26, 47.

In dem letzten Hefte der Comptes rendus (**94**, 1601) beschreiben A. Gautier u. A. Étard zwei von ihnen bei der Fäulniss des Fischfleisches (Makrele) isolirte basische Producte. Die erste aus den Chloroformextracten erhaltene Base wird als isomer dem Parvolin = $C_9H_{13}N$, die zweite als eine dem von Cahours und Étard aus Nicotin erhaltenem Hydrocollidin isomere Verbindung bezeichnet und ihr die Formel $C_8H_{13}N$ beigelegt.

Ich will hier die als dem Parvolin isomer bezeichnete Substanz unberücksichtigt lassen, obgleich die von den Verfassern mitgetheilten analytischen Belege wenig mit der Theorie stimmen. (Gef. in Chloroplatinate N 5.1 Proc; Pt 29.3 Proc., ber. N 4.1 Proc.; Pt 28.5 Proc.) Dagegen das zweite von Gautier und Étard erhaltene Alkaloid ist bereits vor 6 Jahren von mir dargestellt und analysirt worden. Allerdings hat das Product von mir die Zusammensetzung $C_8H_{11}N$ und nicht die von Gautier und Étard vorgezogene Formel $C_8H_{13}N$. Aber auch die von ihnen mit-

getheilten Zahlen stimmen viel besser mit der Formel $C_8H_{11}N$ überein. Ueber die Eigenschaften der beiden Basen sagen die Herren Folgendes: Ce sont des liquides huileux, incolores, bleuissant le tournesol, saturant les acides forts, donnant avec les acides nitrique, chlorhydrique, le ferricyanure de potassium et les sels ferriques, les réaction des ptomaïnes; précipitant par le brome, l'iode, les phosphomolybdates, etc. Elles se resinifient assez rapidement .... l'odeur de ces alcaloïdes est faible, mais tenace, et rapelle l'aubépine, l'hydrocollidine et amylamine. Und weiter in Bezug auf die Base $C_8H_{11}N$: L'alcaloïde provenant des derniers extraits chloroformiques fractionnés bout vers 210°. Sa densité à 0° est de 1.0296. Il donne un chlorhydrate en fines agiuilles, amer. Son chloroplatinate, jaune pâle, est cristallisé et peu soluble. Il se redissont à chaud et se prend en aiguilles, recourbées. Le chloroaurate est très instable. La base répond à la formule $C_8H_{13}Az$. Les analyses du chloroplatinate nous ont donné C = 30.1 et 29.9; H = 3.8 et 3.7; Az = 5.4; Pt = 29.1. Le calcul, pour $(C_8H_{13}AzHCl)_2PtCl_4$, exige C = 29.3; H = 4.2; Az = 4.2; Pt = 29.7. La formule $C_8H_{11}Az$ répondrait mieux à nos analyses; mais le point d'ébullition, l'odeur, la viscosité et les propriétés générales raprochent si complétement cette base de l'hydrocollidine que M. M. Cahours et Étard ont dérivée de la nicotine, que nous n'avons pu hésiter sur la composition de notre seconde ptomaïne, d'ailleurs isomérique avec celle de ces derniers auteurs.

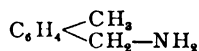
Da meine Arbeit über diesen Gegenstand in keiner chemischen Zeitschrift, sondern als akademische Festschrift zum 40 jährigen Jubiläum des Professor Valentin gedruckt wurde[1]) und wenig bekannt geworden zu sein scheint, so will ich daraus das auf die Base $C_8H_{11}N$ Bezügliche hier anführen.

Ich erhielt dieselbe, als ich 200 g Ochsenpankreas mit 600 g Gelatine in 10 Liter Wasser gelöst 5 Tage lang bei 40° faulen liess. Die Flüssigkeit wurde sodann zur Verjagung der flüchtigen Fettsäuren mit Schwefelsäure destillirt. Da beim Uebersättigen der schwefelsauren Lösung mit Barythydrat neben dem ammoniakalischen noch ein anderer, nicht unangenehmer, aromatischer Geruch wahrnehmbar wurde, so habe ich die verfaulte Flüssigkeit mit Barythydrat destillirt und das Destillat in Salzsäure aufgefangen. „Die salzsaure Lösung verdunstet, hinterliess neben Salmiakkrystallen auch ein in rhombischen Nadeln krystallisirendes Salz, das durch Krystallisation aus absolutem Alkohol von Salmiak frei erhalten wurde. Um die Base zu isoliren, wurde das salzsaure Salz mit Natronlauge zersetzt, worauf sie sich als ölige Schicht abgeschieden hat. Durch Schütteln mit Aether, Verdunsten der ätherischen Lösung erhielt ich so die ölige Base von dem eigenthümlichen, nicht unangenehmen Geruch. Sie absorbirte stark Kohlensäure an der Luft und nach längerem Stehen bildete sich das Carbonat als eine blätterig krystallinische Masse. Das kohlensaure Salz wurde von Neuem in Salzsäure gelöst und mit alkoholischem Platinchlorid gefällt. Das abgeschiedene Platinsalz, in heissem Wasser leicht, in kaltem nur sehr wenig löslich, liess sich sehr leicht umkrystallisiren und erwies sich unter

[1]) Ueber die Versetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas, von M. Nencki. Bern 1876. Im Commissionsverlag der J. Dalp'schen Buchhandlung. — Dieser Band S. 181

dem Mikroskope als durchaus homogen, aus schönen flachen Nadeln bestehend. Die Analysen des Chloroplatinates gaben folgende Zahlen: C 29.68; H 3.99; Pt 30.17.

Die erhaltenen Zahlen stimmen auf die Formel eines Platinsalmiaks von der Zusammensetzung $(C_8H_{11}N)_2\ 2(HCl)\ PtCl_4$, welche C 29.33; H 3.67; N 4.27 und 30.16 Pt verlangt. Eine flüchtige Base von der Zusammensetzung $C_8H_{11}N$ ist das von Anderson [1]) aus dem Dippel'schen Oele erhaltene Collidin. Diese Base wurde später von Ador und Baeyer [2]) durch Erhitzen von Aldehydammoniak mit Alkohol auf 120 bis 130° erhalten und fast gleichzeitig fand Krämer, dass Aethylidenchlorid, mit wässerigem $NH_3$ auf 160° erhitzt, dieselbe Base in grosser Menge und in sehr reinem Zustande liefert. Der Beschreibung nach scheint mir das Aldehyd-Collidin mit dem Anderson'schen identisch zu sein, wenn auch kleine Differenzen in der Beschreibung der Eigenschaften, wie sie von Anderson angegeben werden und dem Aldehyd-Collidin von Baeyer [3]) hervorgehoben werden. Bei der Leichtigkeit, mit der man nach der Methode Krämer's Collidin bereiten kann, habe ich die Base in grösserer Quantität dargestellt, um sie mit der von mir erhaltenen vergleichen zu können. Schon der Geruch, die bedeutend leichtere Löslichkeit meiner Base in Wasser und die verschiedene Krystallform des Platinsalzes zeigten zur Genüge, dass die beiden Verbindungen nicht identisch sein können. Charakteristisch namentlich ist der Unterschied beim trockenen Erhitzen der beiden Platinsalze. Wird das Salz der Base aus Leimfäulniss trocken erhitzt, so entweicht ein mit russender Flamme brennendes Oel von eigenthümlichem, dem Xylol oder Cumol ganz ähnlichem Geruch. Bei dem Collidinplatinsalmiak konnte ich nichts Derartiges bemerken. Unwillkürlich drängt sich der Gedanke auf, dass hier eine aromatische Base, vielleicht von der Formel

$$C_6H_4{<}{}^{CH_3}_{CH_2-NH_2}$$

vorlag."

Ich war also der Erste, der die Base, die jetzt als „Ptomaïn" bezeichnet wird, in reinem Zustande darstellte, analysirte und nachwies, dass sie mit Aldehyd-Collidin isomer ist. Auf die im Jahre 1875 publicirte Mittheilung von Moriggia und Battistini: „Ueber das Leichengift" [4]), sowie die ersten im Jahre 1876 publicirten Mittheilungen von Selmi, Casali und Pesci [5]) „Ueber die Leichenalkaloide", konnte ich natürlich keine Rücksicht nehmen, da die genannten Autoren bloss Reactionen, aber keine Angaben über die Zusammensetzung ihrer Substanzen mittheilten. Ich bin noch heute der Ansicht, dass das von mir erhaltene Alkaloid eine aromatische Base, wahrscheinlich ein Isophenyläthylamin $= C_6H_5-CH{<}{}^{CH_3}_{NH_2}$ ist. Möglich, dass das Alkaloid bei der Fäulniss aus dem Tyrosin nach der Gleichung $C_9H_{11}NO_3 = C_8H_{11}N + CO_2 + O$ entsteht. Die Sauerstoffentziehung neben Kohlensäure-

[1]) Ann. Chem. Pharm. **49**, 358.

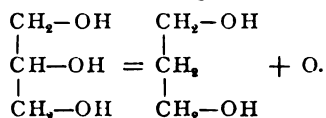
[2]) Ebenda **155**, 297.

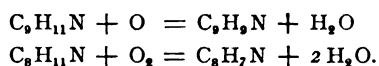
[3]) A. a. O. S. 299.

[4]) Maly's Jahresber. f. d. Jahr 1875, S. 77.

[5]) Ebenda 1876, S. 79.

abspaltung hat nichts Auffallendes. Noch kürzlich zeigte Freund [1]), dass durch die Spaltpilze Glycerin durch Sauerstoffentziehung in Trimethylenglycol verwandelt wird:

$$\begin{array}{lcl} CH_2-OH & & CH_2-OH \\ | & & | \\ CH-OH & = & CH_2 \quad + O. \\ | & & | \\ CH_2-OH & & CH_2-OH \end{array}$$

Die von Gautier und Étard als dem Parvolin isomer bezeichnete Base hat wahrscheinlich die Zusammensetzung $C_9H_{11}N$ und stehen beide Basen in nahem Verhältniss zu Skatol und Indol:

$$C_9H_{11}N + O = C_9H_9N + H_2O$$
$$C_8H_{11}N + O_2 = C_8H_7N + 2H_2O.$$

Betonen möchte ich, dass unter den zahlreichen bis jetzt isolirten aromatischen Fäulnissproducten kein einziges erhalten wurde, das mehr als 9 Kohlenstoffatome, also nicht mehr als Tyrosin, enthält.

Ich will bei dieser Gelegenheit noch aus der oben erwähnten Arbeit anführen, dass in denjenigen Fällen, wo bei der Gelatinefäulniss kein Glycocoll erhalten wurde, ich ein anderes Product isolirte, welches, nachdem aus der faulen Flüssigkeit die Basen durch Baryt, die flüchtigen Fettsäuren durch Schwefelsäure verjagt wurden, beim Verdunsten der schwach schwefelsauren Lösung auf dem Wasserbade sich in grossen blätterigen Krystallen ausschied, das ich als ein schwefelsaures Salz einer neuen Substanz erkannte. Durch Kochen mit $CO_3Pb$ wurde dies Salz zersetzt, von Spuren gelösten Bleies durch $SH_2$ befreit und auf dem Wasserbade eingedampft. Es hinterblieb ein dicker, farbloser Syrup (von ekligem, bitterem Geschmack), der auch nach längerem Stehen nicht krystallinisch wurde, jedoch, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, von Neuem das schwefelsaure Salz lieferte.

Ich habe seither mindestens 20 Versuche wiederholt, in der Hoffnung, den Körper, den ich für eine krystallisirte Verbindung des Leimpeptons mit Schwefelsäure hielt, wieder darstellen zu können, jedoch ohne Erfolg. Es ist mir wahrscheinlich, dass diese Substanz aus dem Leim durch eine besondere, nicht häufig vorkommende Species der Spaltpilze entsteht. In dieser Hinsicht sind die Erfolge der Mikrographen, reine Spaltpilzculturen, wie z. B. der Milzbrandbacillen, zu erhalten, von Wichtigkeit und vielleicht wird es mir noch in der Zukunft gelingen, durch Anwendung einer isolirbaren Spaltpilzspecies die obige Substanz wieder zu erhalten.

Bern, im Juni 1882.

[1]) Wiener Akademieberichte **84**, 2. Abthlg. Jahrg. 1881.

# Ueber die Condensationsproducte aus Phenolen und Essigsäure und über eine einfache Darstellungsmethode der Säureäther der Phenole

von

**F. Rasinski.**

Journ. prakt. Chem. **26**, 53. — Nach dem Referate von Dr. Schotten abgedruckt. Ber. **15**, 2907.

Zur Darstellung von Phenaceteïn, $C_{16}H_{12}O_2$, werden 10 g Phenol, 20 g Essigsäureanhydrid und 20 g Chlorzink 20 bis 30 Minuten am Rückflusskühler zum Sieden erhitzt. Die erkaltete Schmelze wird mit Wasser ausgewaschen und mit 5 proc. Salzsäure digerirt. Beim Neutralisiren der nach längerem Stehen filtrirten salzsauren Lösung mit Ammoniak fällt das Phenaceteïn in rothen Flocken aus. Es ist unlöslich in Wasser und Benzol, löslich in Alkohol, Aether, Eisessig und in Alkalien. Die saure Lösung ist gelb, die alkalische himbeerroth; doch ist die Farbe sehr unbeständig. Aus Orcin, Eisessig und Chlorzink wird ein Product erhalten, welches zwei neue Körper enthält. Der eine krystallisirt aus 50 proc. Alkohol aus und scheint ein Homologes des Acetfluoresceïns (Journ. prakt. Chem. **23**, 537. — Dieser Band S. 591.) zu sein. Das in den alkoholischen Mutterlaugen bleibende Orcaceteïn, $C_{18}H_{16}O_4$, wird gereinigt, indem der Abdampfrückstand mit einem Gemisch von Aether und Essigäther extrahirt, die filtrirte Lösung verdampft und der Rückstand mit Ammoniak gewaschen wird. In Kalilauge gelöst und mit Salzsäure ausgefällt erscheint das Orcaceteïn als gelbes, amorphes Pulver. Ein Acetylderivat desselben konnte nicht erhalten werden; dagegen liefert das Resaceteïn ein gut krystallisirtes, bei 229° schmelzendes Triacetylderivat. Dies Homologe des Resacetophenons (Journ. prakt. Chem. **23**, 537), welch' letzteres zunächst bei der Einwirkung von Eisessig und Chlorzink auf Resorcin entsteht, bildet sich aus dem Orcin, wenn als wasserentziehendes Mittel statt des Chlorzinks Phosphoroxychlorid angewendet wird. 9 g trockenes Orcin werden in 13.5 g heissem Eisessig gelöst und der Lösung in kleinen Portionen 18 g Phosphoroxychlorid zugesetzt. Nach beendigter Reaction wird die Schmelze in Wasser gegossen, und das sich abscheidende Oel mit Alkali ausgekocht, wobei es unter Zersetzung in Lösung geht. Aus der filtrirten Lösung scheidet Salzsäure das Orcacetophenon, $C_9H_{10}O_3$, in seideglänzenden Nadeln ab, die nach dem Umkrystallisiren aus heissem Wasser oder Benzol constant bei 146° schmelzen. Wie schon Nencki (Journ. prakt. Chem. **25**, 282. — Dieser Band S. 630.) mitgetheilt hat, lassen sich mittelst Phosphoroxychlorid leicht Säureäther von Phenolen darstellen. Das zuerst von Nalin und später von Döbner (Ber. **2**, 519) untersuchte Phenylbenzoat bildet sich mit einer Ausbeute von über 50 Proc., wenn 11 g Benzoësäure mit 10 g Phenol zusammengeschmolzen und unter allmählichem Zusatz von

Phosphoroxychlorid einige Minuten erwärmt werden, bis die Salzsäureentwickelung nachlässt. Nach dem Auswaschen der Schmelze mit verdünntem Alkali wird der Phenyläther aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt. In derselben Weise wurden der Diphenyläther der Bernsteinsäure, der Resorcindibenzoëäther und der Orcindibenzoësäureäther dargestellt.

---

# Ueber Resocyanin und die Einwirkung von Acetessigäther auf die Phenole bei Gegenwart wasserentziehender Mittel

von

**M. Wittenberg.**

Journ. prakt. Chem. **26**, 66. — Nach dem Referate von Dr. Schotten abgedruckt. Ber. **15**, 2908.

Wird eine Lösung von 3 Thln. Pyrogallol in 2 Thln. Acetessigäther gelinde erwärmt und mit einigen Tropfen concentrirter Schwefelsäure versetzt, so färbt sich das Gemisch gelbroth und geräth in lebhaftes Schäumen. Die nach wenigen Minuten erstarrte Masse wird mittelst Wasser von nicht angegriffenem Pyrogallol befreit und aus verdünntem Alkohol und heissem Wasser umkrystallisirt. So resultiren farblose rhombische Säulen und Blättchen von der Formel $C_{15}H_{12}O_6 + 1^1/_2 aq$. Der neue Körper erhält den Namen Allylendigalleïn, da angenommen wird, dass im Spaltungsproduct des Acetessigäthers, resp. des daraus entstehenden Acetons, auftretendes Allylen sich mit 2 Molekülen Pyrogallol unter Austritt von 4 Hydroxylwasserstoffen verbindet. Zwei Hydroxylwasserstoffe enthält das Allylendigalleïn noch, da es ein gut krystallisirtes, bei 176° schmelzendes Diacetylderivat liefert. Das Allylendigalleïn ist unlöslich in kaltem Wasser, etwas löslich in kaltem Alkohol, in Benzol und Aether. Die gelbrothen Lösungen in Alkali werden an der Luft dunkel. Der Schmelzpunkt liegt bei 235°. Analog dem Digalleïn entsteht offenbar auch das früher (Journ. prakt. Chem. **25**, 81. — Dieser Band S. 620.) beschriebene Resocyanin, welches man als Allylentriresorcin bezeichnen könnte. Von diesem Körper ist nachzutragen, dass er beim Schmelzen mit Kalihydrat aus Kohlensäure nur Resorcin liefert. Aus Orcin, Acetessigäther und Schwefelsäure lassen sich nadelförmige Krystalle (Schmelzpunkt 249°) gewinnen, deren Analysenwerthe sowohl der Formel $C_{17}H_{16}O_5$ als $C_{31}H_{30}O_9$ genügen. Acetyl- und Bromderivat lassen die Frage gleichfalls unbeantwortet. Auch die Constitution eines aus $\alpha$-Naphtol erhaltenen Körpers ist noch unaufgeklärt. Pyrogallol, Aceton und Phosphoroxychlorid wirken auf einander unter Bildung eines krystallisirten Körpers, für welchen die Formel $C_9H_{10}O_3$ in Anspruch genommen wird, obwohl die Wasserstoffbestimmungen durchgängig zu hoch ausgefallen sind. Das Gallacetonin (Schmelzpunkt 250°) bildet ein Monoacetylderivat; es enthält mithin noch einen Hydroxylwasserstoff.

---

# Ueber das Urorosein, einen neuen Harnfarbstoff

von

**M. Nencki** und **N. Sieber.**

Journ. prakt. Chem. 26, 333.

Gelegentlich unserer Untersuchungen „über die physiologische Oxydation" machten wir die Beobachtung, dass der wasserhelle Urin eines an der schweren Form des Diabetes leidenden Patienten, mit reiner (chlorfreier) Salzsäure versetzt, sich schön rosaroth färbte. Diese bis jetzt nicht beachtete Erscheinung regte uns zur genaueren Untersuchung derselben an, und ist es auch uns nicht gelungen, die farbige Materie in chemisch reinem Zustande darzustellen und zu analysiren, so haben wir doch ihre wichtigsten Eigenschaften kennen gelernt, wodurch es leicht gemacht ist, gegebenen Falls ihr Vorkommen nachzuweisen.

Diesen Farbstoff, den wir Urorosein nennen wollen, erhielten wir, wie schon erwähnt, zum ersten Male und zwar in relativ grösster Menge aus dem Urin eines Diabetikers. In vier anderen Fällen der gleichen Krankheit enthielt der Harn den Farbstoff nicht. Ebenso fanden wir ihn bis jetzt nicht im Harne Gesunder; dagegen bei sehr verschiedenartigen Krankheiten: so bei Chlorose, Osteomalacie, Nephritis, Typhus abdominalis, Carcinoma oesophagi, Ulcus ventriculi und Perityphlitis. Durchschnittlich war der Farbstoff in etwa 10 Proc. der von uns untersuchten [1]) pathologischen Urine vorhanden.

Sein Nachweis ist sehr einfach. 50 bis 100 ccm des Harnes wurden in der Kälte mit 5 bis 10 ccm 25 proc. Schwefelsäure oder auch Salzsäure versetzt. Enthält der Harn den Farbstoff, so geht dadurch seine gelbliche Färbung in röthliche bis schön rosa über. Wird jetzt der Harn mit einigen Cubikcentimetern Amylalkohols geschüttelt, und zwar zur Vermeidung der belästigenden Schaumbildung nur wenig und gelinde, so nimmt der Alkohol allen Farbstoff auf. Bei der spectroskopischen Untersuchung der rothen amylalkoholischen Lösung sehen wir im grünen Theil des Spectrums zwischen den Linien $D$ und $E$, etwas näher der Natriumlinie $D$, einen für den Farbstoff charakteristischen Absorptionsstreifen. Genauere Bestimmungen ergaben dann, dass in äthylalkoholischer Lösung im Mittel das Maximum der Absorption der Wellenlänge = 557 millionstel Millimeter entspricht. In dickerer Schicht oder concentrirterer Lösung lässt der Farbstoff nur Roth und Orange hindurch. Beim Verdünnen der Lösung wird dann successive Blau, Indigo und Violett sichtbar. Nur beim Ansäuern des Harnes mit Mineralsäuren tritt der Farbstoff etwa nach 1 bis 3 Minuten auf. Eisessig ist z. B. nicht im Stande, die rothe Färbung im uroroseinhaltigen Harne hervorzurufen. Allem Anscheine nach wird also auch dieser Farbstoff in Form einer Aetherschwefelsäure ausgeschieden, welche

[1]) Dabei hat uns Herr Dr. Bourquin, Assistent der hiesigen medicinischen Klinik, freundlichst unterstützt.

schon in der Kälte durch Mineralsäuren zerlegt wird. Aethyläther, Chloroform, Benzol oder Schwefelkohlenstoff, mit uroroseïnhaltigem Harne geschüttelt, nehmen den Farbstoff nicht auf. In Essigäther ist er schwer löslich. Ammoniak, fixe und auch kohlensaure Alkalien entfärben die rothe Lösung sofort. Durch Säurezusatz im Ueberschuss kehrt die Farbe wieder zurück. Schüttelt man die alkoholische säurehaltige Lösung des Farbstoffs mit Zinkstaub, so tritt augenblicklich Entfärbung ein. Beim Stehen an der Luft färbt sich die filtrirte, farblose Flüssigkeit in kurzer Zeit roth und das charakteristische Absorptionsband im Spectrum wird wieder sichtbar.

Uroroseïn zeichnet sich durch seine grosse Unbeständigkeit aus, weshalb es wohl auch bisher in pathologischen Harnen übersehen wurde. Uroroseïnhaltige Harne, welche nach Zusatz von Salzsäure sich schön rosa färben, erblassen schon bei gewöhnlicher Temperatur nach wenigen Stunden und der Farbstoff verschwindet. Ebenso beim Verdampfen der wässerigen oder alkoholischen Lösung, wobei braune Harztropfen hinterbleiben. Auch durch Fäulniss wird es rasch zerstört.

Von den beiden genauer bekannten Farbstoffen des Harns, dem Urobilin und dem Indigblau, unterscheidet sich also unser neuer Farbstoff wesentlich. Auch von den bis jetzt in pathologischen Harnen aufgefundenen Farbstoffen ist er verschieden. Die Eigenschaften eines von C. Prat[1]) im Harne aufgefundenen rothen Farbstoffs, sowie die des vor Kurzem von Plósz[2]) beschriebenen sind durchaus von denen des Uroroseïns verschieden. Die grösste Aehnlichkeit dagegen hat das Uroroseïn mit den Rosanilinfarbstoffen. Fuchsin, das in stark verdünnten Lösungen die gleiche Nüance wie das Uroroseïn hat, giebt bekanntlich ebenfalls einen Absorptionsstreifen, der aber, wie wir uns überzeugt haben, ein wenig mehr nach dem Violett zu liegt. Käufliche Fuchsinsulfonsäure dagegen zeigt in alkoholischer Lösung einen Absorptionsstreifen, dessen Lage genau die gleiche wie die des Uroroseïns ist. Es unterliegt aber keinem Zweifel, schon wenn man die grosse Unbeständigkeit des Uroroseïns berücksichtigt, dass die beiden Farbstoffe nicht identisch sind. Wir brauchen kaum hervorzuheben, dass die Patienten, in deren Harne wir das Uroroseïn fanden, keinen fuchsinhaltigen Wein getrunken hatten, wie überhaupt irgend ein Einfluss der Ernährung auf die Uroroseïnbildung nicht zu ermitteln war. Manchmal verschwand es für einige Tage aus dem Harne ohne nachweisbaren Grund, worauf es wieder zum Vorschein kam.

Die Aehnlichkeit im chemischen Verhalten zwischen Uroroseïn und Rosanilin hat uns auch zu einer einfachen Methode, relativ concentrirtere Lösungen des Uroroseïns darzustellen, geführt. Das Verfahren ist folgendes: 1 bis 3 Liter des uroroseïnhaltigen Harns werden auf dem Wasserbade in flachen Schalen rasch bis auf die Hälfte des ursprünglichen Volumens verdunstet. Hierauf, wenn die Flüssigkeit auf etwa 30° erkaltet ist, mit Salz- oder auch verdünnter Schwefelsäure angesäuert und der roth gefärbte Harn mit entfetteter Wolle ausgefärbt. Um den Farbstoff auf der Faser zu fixiren, wird die salzsaure Harnlösung mit Natriumacetat im Ueber-

[1]) Gazette medicale de Paris (1878), S. 49.
[2]) Zeitschrift f. physiolog. Chem. 6, 504.

schusse versetzt. Die hierauf mit Wasser sorgfältig ausgewaschene Wolle wird an der Luft getrocknet und sodann mit absolutem Alkohol, dem etwas Schwefelsäure zugesetzt worden, auf dem Wasserbade gekocht. Der säurehaltige Alkohol entzieht der Wolle den Farbstoff, und so erhielten wir verhältnissmässig seine reinsten Lösungen; auch sind sie die haltbarsten, indem selbst nach Wochen, wenn auch die Lösung allmählich erblasste, der charakteristische Absorptionsstreifen im Spectrum noch sichtbar war.

Das Uroroseïn, das durch seine Unbeständigkeit an das „Sehroth" erinnert, ist möglicher Weise auch nur ein Zersetzungsproduct aus dem Eiweiss, im Darmcanale durch eine nicht besonders häufig vorkommende Spaltpilzspecies gebildet. Gelegentlich der Untersuchung: „Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas" hat der eine von uns eine aromatische, dem Aldehyd-Collidin isomere Base isolirt. Gautier, der diese Base bei der Fäulniss des Fischfleisches ebenfalls erhielt, betrachtet sie als das Ptomaïn von Selmi. Es kann sein, dass diese Base, durch Fäulniss im Darmcanale entstanden, die Muttersubstanz des Uroroseïns ist. Directe Fütterungsversuche mit dem Ptomaïn werden zeigen, inwiefern diese Vermuthung richtig ist. Auf alle Fälle lernen wir hier zu den Harnfarbstoffen, welche einerseits von der Galle resp. Blutfarbstoff, andererseits vom Skatol und Indol herrühren, noch einen dritten kennen, der in seinen Eigenschaften von ihnen ganz verschieden und am nächsten den Rosanilinfarben verwandt zu sein scheint. Zum Schlusse möchten wir die ausgezeichnete Eigenschaft des Amylalkohols, Farbstoffe aus dem Harn aufzunehmen, hervorheben. Nichts ist z. B. leichter, als das Urobilin durch Ansäuern des Harns, Schütteln mit Amylalkohol und nachherige spectroskopische Prüfung der amylalkoholischen Lösung nachzuweisen. Die meisten uroroseïnhaltigen Harne, mit Amylalkohol extrahirt, zeigen deshalb im Spectrum ausser dem Streifen zwischen $D$ und $E$ noch den Urobilinstreifen. Wir haben so im ganz wasserhellen diabetischen Urin, nachdem er auf etwa ein Drittheil des ursprünglichen Volums verdunstet, sodann mit Salzsäure angesäuert und mit Amylalkohol extrahirt wurde, die Gegenwart des Urobilins nachweisen können.

Bern, October 1882.

# 1883

## Ueber eine neue Methode, die physiologische Oxydation zu messen und über den Einfluss der Gifte und Krankheiten auf dieselbe

von

**M. Nencki** und **N. Sieber.**

Pflüger's Arch. **31**, 319.

Benzol wird im Organismus zu Phenol, Brenzcatechin und Hydrochinon oxydirt [1]). Die beiden letzteren Substanzen zusammen entstehen hierbei in fast gleicher Menge wie das Phenol allein. Diese Oxydationsproducte werden vorwiegend als Aetherschwefelsäuren, theilweise, abhängig von der Menge des zugeführten Benzols und sonstigen Ernährungsverhältnissen, als Paarlinge der Glycuronsäure durch den Harn ausgeschieden [2]).

Ausserhalb des Organismus entsteht Phenol aus Benzol unter verschiedenen Bedingungen, die aber alle das gemeinschaftlich haben, dass dabei der sogenannte active (atomistische) Sauerstoff auftritt. So wird Benzol zu Phenol oxydirt durch Wasserstoffsuperoxyd [3]), Ozon [4]) durch atmosphärischen Sauerstoff bei Gegenwart von Wasser und Palladiumwasserstoff [5]), oder der Oxydulsalze von Kupfer oder Eisen [6]), in letzteren Fällen entsteht aller Wahrscheinlichkeit nach zuerst Wasserstoffsuperoxyd; sodann bei Gegenwart von Chloraluminium [7]) und endlich bei Gegenwart von Alkalihydroxyden, wenn das Benzol dem Sonnenlichte unter zeitweiser Erwärmung ausgesetzt wird [8]).

---

[1]) Nencki und Giacosa, Zeitschr. f. phys. Chem. **4**, 336. — Dieser Band S. 515.

[2]) Schmiedeberg, Archiv f. exper. Path. u. Pharm. **14**, 302.

[3]) A. R. Leeds, Ber. **14**, 975.

[4]) Nencki und Giacosa, l. c., S. 339. — Dieser Band S. 517.

[5]) Hoppe-Seyler, Ber. 1879, S. 1552.

[6]) Nencki und Sieber, Journ. f. prakt. Chem. N. F. **26**, 25. — Dieser Band S. 659.

[7]) Friedel und Crafts, Compt. rend. 1879. **84**, 1460.

[8]) Radziszewski, Ber. d. Krakauer Akad. d. Wissensch. 1881 und Journ. f. prakt. Chem. **23**, 96.

Seitdem wir gesehen haben, dass im menschlichen Organismus bei Krankheiten nach Aufnahme gleicher Mengen Benzol so ausserordentlich verschiedene Mengen des Phenols im Harne auftreten, wie dies z. B. bei Diabetes und Leukämie der Fall ist, haben wir eine Reihe von Versuchen angestellt, um zu erfahren, ob es möglich ist, aus der Menge des nach Eingabe von Benzol ausgeschiedenen Phenols den Verlauf und die Intensität der Oxydationen im Thierkörper bemessen zu können. Aus den unten mitzutheilenden Zahlen wird man ersehen, dass dies leicht und mit hinreichender Genauigkeit ausführbar ist. Zunächst wollen wir jedoch einige hierauf bezügliche Bemerkungen vorausschicken.

Unter allen aromatischen Verbindungen, deren Verhalten im Organismus untersucht wurde, eignete sich für unseren Zweck am besten das Benzol, da das hauptsächlichste Oxydationsproduct desselben — das Phenol — leicht durch Destillation des Harnes mit Mineralsäuren isolirt und durch Fällung als Tribromphenol genau quantitativ bestimmt werden kann [1]). Aber nicht alles eingegebene Benzol wird im Organismus zu den eingangs genannten Producten oxydirt. Es hängt dieses nicht allein von der Thierspecies, sondern auch von der Individualität ab. Im Allgemeinen bilden Hunde aus gleichen Mengen Benzol weniger Phenol als Menschen und Kaninchen. Die letzteren oxydiren nach Eingabe von 1 g Benzol $^1/_4$ bis $^1/_3$ desselben zu Phenol. Nimmt man ferner an, dass ein anderes Drittheil zu Brenzcatechin und Hydrochinon oxydirt wurde, so bleibt noch immer etwa $^1/_3$, über dessen Schicksal nichts Bestimmtes angegeben werden kann. Wir halten es bei der grossen Flüchtigkeit des Benzols für wahrscheinlich, dass ein Theil desselben unverändert durch die Lungen ausgeschieden wird. Hunde oxydiren nach Eingabe von 1 bis 2 g Benzol kaum den 7. Theil zu Phenol und scheint hier das Alter und die Individualität des Thieres von wesentlichem Einfluss zu sein. Bei Menschen sind die individuellen Schwankungen nicht so gross. Nach Einnahme von 2 g schwankt die Menge des ausgeschiedenen Phenols zwischen 0.6 bis 0.9 g.

Die Intensität der Oxydationen aus der Menge der gesammten Oxydationsproducte, sowohl des Phenols wie der Dioxybenzole, bemessen zu wollen, ist zunächst deshalb nicht ausführbar, weil sowohl das Brenzcatechin, wie das Hydrochinon nicht vollständig aus dem Harne isolirt werden kann. Auch die Menge der nach Eingabe von Benzol vermehrt ausgeschiedenen Aetherschwefelsäuren ist kein Maass für die entstandenen Oxydationsproducte, da ein wechselnder Theil der letzteren nicht mit Schwefelsäure, sondern mit Glycuronsäure gepaart, den Organismus verlässt.

Die Methode, aus der Menge des nach Eingabe von Benzol ausgeschiedenen Phenols die Intensität der Oxydation zu messen, kann daher nur dann anwendbar sein, wenn wenigstens innerhalb mehrerer Wochen das gleiche Individuum unter

[1]) Das Tribromphenol wurde in allen unseren Bestimmungen, nach dem Trocknen über $SO_4H_2$, gewogen. Die von verschiedenen Seiten (zuletzt noch von Th. Chandelon. Bull. Soc. Chim. **38**, 69 mittelst Kaliumhypobromit) empfohlenen titrimetrischen Methoden sind namentlich für Kaninchenharn nicht brauchbar, da derselbe häufig Nitrate enthält. Die Salpetersäure verflüchtigt sich beim Destilliren des Harnes mit $SO_4H_2$ oder HCl und das Destillat bläut von vornherein Jodkaliumstärkepapier.

den gleichen Bedingungen auch die gleiche Menge Benzol zu Phenol oxydirt. Dies ist, wie wir gefunden haben, auch innerhalb eines Zeitintervalls von mehreren Monaten der Fall. Wir werden ferner zeigen, dass die Menge des Harnwassers keinen, Hunger und unzureichende Ernährung nur einen geringen Einfluss auf den Uebergang, resp. Entstehung des Phenols ausüben, wodurch gerade die allgemeine Anwendbarkeit der Methode nicht eingeschränkt wird.

Streng genommen könnte die Menge des aus Benzol im Organismus entstehenden Phenols nur ein Maass für die Menge des in den Geweben gebildeten atomistischen Sauerstoffs sein und nicht der Intensität der Oxydationen überhaupt, die ja vielleicht unabhängig davon verlaufen. So wird z. B. neutrales harnsaures Alkali schon durch den atmosphärischen Sauerstoff $= O_2$ bei der Bruttemperatur in kurzer Zeit zu Uroxansäure oxydirt. Bei dieser Oxydation tritt aber kein atomistischer Sauerstoff auf [1]). Wir haben aber andererseits nachgewiesen, dass Eiweiss, Fett, Dextrose und die Amidosäuren bei der Bruttemperatur und überschüssigem Alkali durch den molekularen Sauerstoff nur äusserst langsam und unvollständig oxydirt werden [2]). Zu ihrer Verbrennung in den lebenden Organismen muss atomistischer Sauerstoff in den Geweben entstehen, so dass mit ziemlicher Genauigkeit das Messen der Menge des disponiblen atomistischen Sauerstoffs und das Messen der Oxydation überhaupt als gleichwerthig angesehen werden kann.

Wir wollen zunächst die Versuche beschreiben, aus welchen hervorgeht, dass der gesunde Organismus innerhalb längerer Zeiträume stets die gleiche Menge Benzol zu Phenol oxydirt.

Ein Hund, 10 kg schwer, dessen tägliches Futter aus 250 g Fleisch, 200 g Brot und beliebiger Menge Wasser bestand und der abgerichtet war, seinen Harn nur in ein untergehaltenes Gefäss zu entleeren, erhält mit seinem Futter genau 1 g Benzol [3]) in Gelatinekapseln. Sein Harn war vorher phenolfrei. Am ersten Tage schied der Hund 0.14014 g Phenol aus, am zweiten Tage 0.01177 g, am dritten Tage enthielt der Harn kein Phenol mehr. In Summa also 0.15191 g Phenol. Gleichzeitig wurde bei dem Thiere die Schwefelsäure der Salze, sowie die Aetherschwefelsäure bestimmt. Die 24stündige Harnmenge vor der Benzoleingabe enthielt 0.7405 g $SO_4H_2$ der Salze und 0.0603 g $SO_4H_2$ gepaart. Das Verhältniss demnach $= 12.26:1$. In den ersten 24 Stunden nach der Benzoleingabe enthielt der Harn 0.4068 g $SO_4H_2$ der Salze. 0.3275 g gepaart $= 1.24:1$. Das Verhältniss des an diesem Tage ausgeschiedenen Phenols $= 0.14014$ g zu der gepaarten Schwefelsäure $= 0.3275$ g ist hier $= 1:2.23$.

8 Tage später erhielt der gleiche Hund ebenfalls 1.0 g Benzol, mit dem Unterschiede, dass er es diesmal nicht mit dem Futter erhielt, sondern es ihm unter die Haut eingespritzt wurde. Der in den ersten 24 Stunden nach Benzoleinspritzung gelassene Harn enthielt 0.1480 g Phenol, am nächsten Tage 0.0038 g, am dritten Tage

[1]) Vergl. Nencki und Sieber, Journ. prakt. Chem. N. F. **26**, 24. — Dieser Band S. 659.

[2]) l. c.

[3]) Zu diesem und allen folgenden Versuchen benutzten wir das von Kahlbaum in Berlin bezogene Benzol cryst., das, über Natrium getrocknet und rectificirt, den constanten Siedepunkt 78.5° bei 710 mm Bst. hatte.

enthielt der Harn kein Phenol mehr. In Summa wurden jetzt 0.1518 g Phenol ausgeschieden. Also eine so geringe Differenz, wie sie kaum zu erwarten war. Die jetzt in den ersten 24 Stunden nach Benzoleingabe entleerte Harnmenge enthielt 0.1908 g $SO_4H_2$ der Salze. 0.412 g $SO_4H_2$ gepaart, also das Verhältniss = 0.46 : 1. Das Verhältniss des in den ersten 24 Stunden ausgeschiedenen Phenols = 0.1480 zu den Aetherschwefelsäuren = 0.412 ist hier wie 1 : 2.7.

Um zu sehen, ob nach grösseren Benzoldosen die Menge des ausgeschiedenen Phenols proportional zunimmt, erhielt der gleiche Hund bei gleichem Futter 2 Monate später 2 g Benzol in Gelatinekapseln. In dem in den ersten 24 Stunden hierauf entleerten Harne waren 0.2822 g Phenol. Da der Harn vom dritten Tage auch Phenol enthielt, so wurde er mit dem vom zweiten Tage vereint und darin 0.0366 g Phenol gefunden. Im Ganzen hat der Hund 0.3188 g Phenol nach 2 g Benzol ausgeschieden, also ziemlich genau doppelt so viel als wie nach Eingabe von 1 g Benzol. In den ersten 24 Stunden enthielt der Harn 0.5396 g gepaarte Schwefelsäuren und keine der Salze. Das Verhältniss des ausgeschiedenen Phenols = 0.2822 zu den Aetherschwefelsäuren war hier = 1 : 1.91 und es ist mit Sicherheit anzunehmen, dass ein Theil der Oxydationsproducte, mit Glycuronsäure gepaart, ausgeschieden wurde.

Ein Kaninchen, 2.93 kg schwer, erhält 1.0 g Benzol subcutan. Der hierauf in den ersten 10 Stunden mittelst Katheter entnommene Harn enthielt 0.1406 g Phenol. Der in den folgenden 14 Stunden entnommene Harn enthielt 0.032 g Phenol. Der später entnommene Harn enthielt kein Phenol mehr. In Summa wurden also hier erhalten 0.1726 g Phenol. 8 Tage später erhält das gleiche Thier wieder 1 g Benzol subcutan injicirt. Der in den ersten 10 Stunden entnommene Harn enthielt 0.1678 g Phenol. Der in den folgenden 14 Stunden 0.0108 g. Im Ganzen also 0.1786 g. Auch jetzt wurde das Gesammtphenol in den ersten 24 Stunden ausgeschieden [1]). Ein mittelgrosses Kaninchen, 1910 g schwer, erhält 1.0 g Benzol, die Ausscheidung des Phenols dauerte hier 38 Stunden. In dem Gesammtharne = 246 ccm gefunden 0.2501 g Phenol. 4 Tage später erhält das Thier wiederum 1.0 g Benzol. Die Phenolausscheidung dauerte jetzt 48 Stunden. In dem Gesammtharne = 220 ccm gefunden 0.2396 g Phenol.

Herr Dr. Brzeziński, 28 Jahre alt, welcher einen Theil dieser Untersuchungen ausführte, hat an sich selbst folgenden Versuch angestellt. Nachdem er constatirt hatte, dass sein Harn normaler Weise kein Phenol enthielt, nahm er 2 g Benzol ein. Die Phenolausscheidung dauerte hierauf 3 Tage. Der in der Zeit gesammelte und

[1]) Wir benutzten zu den weiter unten zu beschreibenden Intoxicationsversuchen ausschliesslich Kaninchen, welche aus mehreren Gründen sich viel besser als Hunde dazu eignen. Sie brechen nicht und ihr Harn kann ebenso vollständig wie von den best dressirten Hunden erhalten werden. Die Thiere — Männchen von Kaninchen oder Halbhasen —, deren Futter aus Kohl, Carotten und Hafer in hinreichenden Mengen bestand, wurden während der Versuche regelmässig um 9 Uhr Morgens, 2 Uhr Mittags und 7 Uhr Abends katheterisirt. Für die Nacht wurden sie in einen grossen Topf gesetzt, auf dessen Boden sich eine mit Drahtnetz überspannte Porcellanschale befand, und bekamen kein Futter. In den seltensten Fällen haben die Thiere den Nachtharn in die Schale gelassen. Vor jedem Versuche wurde stets geprüft, ob der Harn nicht schon normaler Weise Phenol enthalte und in positivem Falle (was übrigens nur selten vorkommt) das Thier zurückgestellt.

gemischte Harn betrug 5350 ccm. Davon wurde in 500 ccm 0.2926 g Phenol gefunden, oder im Ganzen 0.8881 g. 5 Monate später hat er den gleichen Versuch wiederholt und in toto 0.9150 g Phenol gefunden.

Wie man sieht, wird von einem und demselben Individuum sowohl bei Fleisch- und Pflanzenfressern, als auch beim Menschen innerhalb längerer Zeiträume stets der gleiche Bruchtheil des Benzols zu Phenol oxydirt; denn die Differenzen sind so gering, wie wir sie bei derartigen physiologischen Versuchen gar nicht erwartet haben.

Hunger und unzureichende Ernährung beeinflussen die Mengen des zu Phenol oxydirten Benzols nur wenig.

Ein Kaninchen, 2.517 kg schwer, erhält 1.0 g Benzol subcutan. Der hierauf bis zum Verschwinden des Phenols gesammelte Harn enthielt im Ganzen 0.3068 g Phenol. Einige Tage später liessen wir das Thier 3 Tage lang hungern und es wurde ihm nur Wasser zum Trinken gereicht. Am dritten Tage wog das Kaninchen 2.425 kg. Der Gewichtsverlust betrug also 92 g. An diesem Tage bekommt es 1 g Benzol, jedoch kein Futter. Die jetzt gelassene 24 stündige Harnmenge enthielt 0.3341 g Phenol. Am vierten Tage bekommt das Thier Futter und scheidet noch 0.0006 g Phenol aus. Am fünften Tage im Harne kein Phenol. Im Ganzen hat also das Kaninchen 0.3346 g Phenol ausgeschieden. Die Differenz beträgt demnach nicht ganz 0.03 g und zwar zu Gunsten einer intensiveren Oxydation im Hungerzustande.

Der Hund, an welchem die oben beschriebenen Versuche angestellt wurden, wurde behufs ganz anderer Versuche auf Hungerdiät gesetzt. Sein Futter bestand jetzt täglich in 100 g Brot und 20 ccm Milch mit dem zehnfachen Volum Wasser vermengt. Nach dreiwöchentlicher derartiger Fütterung, während welcher Zeit die Menge des von dem Thiere ausgeschiedenen Harnstoffs zwischen 4.0 und 3.5 g pro die schwankte und das Gewicht des Hundes von 10.38 kg bis auf 8.68 kg fiel, erhält derselbe mit seinem Futter 1 g Benzol in Gelatinekapseln. Der in den folgenden 3 Tagen bis zum Verschwinden des Phenols gesammelte Harn enthielt 0.1374 g Phenol. Bei reichlichem Futter bildete das Thier in zwei Versuchen 0.1519 g und 0.1518 g Phenol; also eine kaum merkliche Verminderung.

Ein grosses Kaninchen — Halbhase — 3.069 kg schwer, nachdem es vorher einige Wochen reichlich mit Kohl, Carotten und Hafer gefüttert war, erhält 1 g Benzol subcutan injicirt. Die Phenolausscheidung dauert hier 60 Stunden und die Gesammtmenge des erhaltenen Phenols betrug 0.3316 g. Jetzt wird das Thier 2 Wochen lang ausschliesslich mit Carotten gefüttert. Das Thier bekommt Durchfälle und nachdem sein Körpergewicht auf 2.680 kg gefallen ist, erhält es wiederum 1 g Benzol. Die Phenolausscheidung dauert hier 48 Stunden und die Gesammtmenge des erhaltenen Phenols beträgt 0.311 g. Zwei Monate später, nachdem das Thier sich schon lange vollkommen erholt hatte und sein Körpergewicht 2.993 kg betrug, erhielt es wiederum 1 g Benzol. Die jetzt hierauf ausgeschiedene Phenolmenge war = 0.3663 g Phenol.

Trotz der erheblichen Körpergewichtsabnahme sind sowohl beim Hund wie beim Kaninchen in Folge mangelhafter Ernährung die Mengen des durch Oxydation entstandenen Phenols kaum erheblich vermindert. Dagegen ist bei Hunden und

Kaninchen die Menge des oxydirten Benzols sehr von der **Individualität** abhängig. So schied in früheren Versuchen von **Nencki** und **Giacosa** ein 14 kg schwerer Hund nach Fütterung mit 2.5 g Benzol nur 0.0889 g Phenol aus. Der zu den jetzigen Versuchen dienende 10.0 kg schwere Hund oxydirte dagegen nach Eingabe von 2.0 g Benzol 0.3188 g Phenol. Ein 2937 g schweres Kaninchen bildet nach Eingabe von 1.0 g Benzol nur 0.175 g Phenol. Ein fast ebenso schweres, nämlich 3069 g wiegendes, bildete aus gleicher Menge Benzol 0.33 g Phenol, also fast die doppelte Menge. Die Methode, die Intensität der Oxydationen im Thierkörper aus der Menge des oxydirten Benzols unter pathologischen Verhältnissen zu bemessen, ist daher bei Thieren nur dann anwendbar, wenn vor- oder nachher ermittelt wird, wie viel Phenol das betreffende Individuum im gesunden Zustande nach Eingabe einer gleichen Menge Benzol ausscheidet.

Wir haben noch die Zahlen nachzutragen, aus welchen hervorgeht, dass nach Eingabe von Benzol das Verhältniss der Aetherschwefelsäuren zu den Oxydationsproducten kein constantes ist und folglich aus der Quantität der gepaarten Schwefelsäuren im Harne die Quantität der Oxydationsproducte sich nicht bemessen lässt. Die Ursache liegt zunächst darin, dass schon normaler Weise die Mengen der täglich ausgeschiedenen Aetherschwefelsäuren ausserordentlich schwanken. So hatte der zu den jetzigen Versuchen dienende Hund bei unzureichender Ernährung in der 24 stündigen Harnmenge 0.1456g $SO_4H_2$ der Salze und keine wägbare Menge gepaarter. Am nächsten Tage 0.1561 g $SO_4H_2$ der Salze und 0.0425 g gepaart; also im Verhältniss wie 3.67 : 1.

Durch grosse Gaben Benzol lässt sich die Menge der Schwefelsäure der Salze bei Hunden bis auf ein Minimum reduciren oder auch ganz zum Verschwinden bringen. Nicht so bei Kaninchen, in deren Organismus die Paarung mit Glycuronsäure anscheinend leichter vor sich geht. So hatte ein Kaninchen, nach Eingabe von 1 g Benzol, in dem darauf gelassenen 24 stündigen Harn 0.1424 g Phenol, 0.1254 g $SO_4H_2$ gepaart und 0.0874 g $SO_4H_2$ der Salze. Die gepaarte Schwefelsäure reicht also hier nicht einmal aus, um Phenolätherschwefelsäure zu bilden; während, wie aus den oben mitgetheilten Zahlen ersichtlich, der Hund mindestens doppelt so viel gepaarte Schwefelsäure als Phenol ausscheidet. In den früheren, mit **Giacosa** angestellten Versuchen [1]) hatte der Hund, welcher allerdings nur sehr wenig Benzol zu Phenol oxydirte, dafür um so mehr Dioxybenzole gebildet, denn sein Harn enthielt nach Abzug der normalen Aetherschwefelsäuren noch immer 3- bis 5 mal mehr davon als Phenol.

Nachdem wir so die Brauchbarkeit unserer Methode, Oxydationen zu messen, erprobt hatten, konnten wir mittelst derselben den Einfluss der Vergiftungen und Krankheiten auf den Verlauf der Oxydationen im Organismus untersuchen, über welchen Gegenstand unsere bisherigen Kenntnisse noch sehr unvollkommen sind. Unter den Intoxicationskrankheiten ist für den Physiologen die acute Phosphorvergiftung wegen des veränderten Stoffwechsels gewiss die interessanteste. Es ist namentlich durch die schöne Arbeit von O. **Schultzen** und L. **Riess** [2]) bekannt,

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie **4**, 334. — Dieser Band S. 514.

[2]) Charitéannalen **15**, 57, 1869.

dass dabei der Stoffwechsel eine tief eingreifende und specifische Veränderung erleidet. Bei der Phosphorvergiftung gehen in den Harn reichliche Quantitäten von Peptonen, Leucin, Tyrosin und Fleischmilchsäure über — alles Substanzen, welche in der Norm der Verbrennung anheimfallen. Dieser Aenderung des Stoffwechsels geht auch die anatomische Veränderung der wichtigsten Organe voraus und in fast allen Organen des Körpers häufen sich Producte an, welche im Wesentlichen als Verbrennungsmaterial des thierischen Organismus aufzufassen sind, wie in der Leber, in den Nieren, in der Musculatur, deren Elemente mit Fett überladen sind. Schwund des protoplasmatischen Eiweisses und Anhäufung von Fett in den Zellen ist für die Phosphorleber charakteristisch. Schultzen und Riess erklären daher auch die Aenderung des Stoffwechsels bei der Phosphorvergiftung als Folge unvollkommener Verbrennung der stickstofffreien, wie der stickstoffhaltigen Substanzen.

Wir haben deshalb schon in unserer letzten hierauf bezüglichen Arbeit[1]) die Vermuthung ausgesprochen, dass bei der Phosphorvergiftung Benzol vielleicht überhaupt nicht mehr zu Phenol oxydirt werde. Die hierüber an Kaninchen angestellten Versuche haben unsere Vermuthung bestätigt.

I. Ein mittelgrosses Kaninchen erhält subcutan 1 g Benzol. Der hierauf in den ersten 24 Stunden mittelst Katheter entnommene Harn enthält fast alles entstandene Phenol; der in der dreissigsten Stunde entnommene Harn enthält nur Spuren davon. Die Gesammtmenge des durch Oxydation des Benzols entstandenen Phenols war 0.1498 g. 4 Tage später wird dem Kaninchen 0.0425 g Phosphor in Oel gelöst unter die Haut injicirt. 8 Stunden später, als das Thier traurig wurde und zu fressen aufhörte, wird ihm 1.0 g Benzol injicirt. 35 Stunden nach der Phosphorvergiftung starb das Thier unter Convulsionen. Der während der Zeit gesammelte Harn = 115 ccm enthält Eiweiss und Gallenfarbstoff. Bei der Destillation mit verdünnter Salzsäure werden im Destillate nur ganz geringe Mengen Phenol durch Brom abgeschieden. Nach dem Trocknen wiegt der Niederschlag von Tribromphenol 0.0279 g = 0.0079 g Phenol[2]).

II. Ein Kaninchen, 2520 g schwer, erhält 1.0 g Benzol subcutan. Die Phenolausscheidung dauert hier 32 Stunden. Die während der Zeit gesammelte Harnmenge = 270 ccm enthält im Ganzen 0.1008 g Phenol. 3 Tage später werden dem Thiere 2 ccm von 2.5 Proc. Phosphoröl = 0.05 g Phosphor unter die Haut injicirt. 8 Stunden später erhält das Thier ebenfalls subcutan 1.0 g Benzol. 17 Stunden nach der Benzolinjection starb das Thier unter heftigen Krämpfen. Der für die ganze Zeit gesammelte Harn = 50 ccm enthält keine Spur von Phenol. Der Harn war stark ikterisch und enthielt auch Eiweiss. Die gleich nach dem Tode vorgenommene Section des Thieres ergab: Leber sehr gross, weisslich-gelb, gelappt, Leberzellen verfettet. Am Herzfleisch unter dem Pericard durchschimmernde gelbliche Färbung. Zahlreiche Ecchymosen in subcutanem Zellgewebe und unter den Muskelfascien.

---

[1]) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **26**, 47. — Dieser Band S. 674.

[2]) Die Versuche mit Phosphor, sowie die folgenden mit Arsen, Kupfer und an Menschen sind von Herrn Brzeziński ausgeführt worden.

III. Da bei den zwei obigen Versuchen die Thiere zu rasch starben, so wurde in einem dritten die Phosphordosis nur halb so gross genommen. Ein Kaninchen, 2560 g schwer, das schon zu einem anderen Versuche, nämlich dem weiter unten zu beschreibenden mit Arsensäure diente, und das normaler Weise nach 1 g Benzol 0.2627 g Phenol ausgeschieden hat, erhielt einige Wochen später, Abends 7 Uhr, Phosphoröl mit 0.025 g Phosphor. Am folgenden Tage, Morgens 9 Uhr, wurde dem Thiere die Blase geleert und 1 g Benzol injicirt. Das Thier ist während des Tages traurig, frisst wenig und trinkt viel Wasser. Am zweiten Tage sind die Krankheitserscheinungen intensiver. Das Kaninchen frisst gar nicht, sitzt still, der Harn enthält Gallenfarbstoff. Der am dritten Tage entnommene Harn enthielt kein Phenol mehr. Unter zunehmender Mattigkeit ging das Thier in der Nacht des vierten Tages zu Grunde. Die Section ergab, dass die Leber nicht vergrössert, jedoch stark ikterisch und teigig war. Wie die mikroskopische Untersuchung ergab, war der grössere Theil der Leberzellen unverändert. Daneben waren auch zahlreiche entartete mit kleinen Fetttropfen angefüllt. Die gesammelte Harnmenge = 240 ccm enthielt nur 0.1591 g Phenol.

Es geht aus diesen Versuchen, die wir noch durch einige mit ähnlichen Ergebnissen wie die zwei ersten vervollständigen könnten, zur Genüge hervor, dass bei der Phosphorvergiftung, wie dies schon frühere Autoren angenommen haben, die Oxydation im Organismus gänzlich darniederliegt. Es kann dies nicht etwa auf Mangel an Sauerstoff bezogen werden, denn Quincke[1]) fand in einem Falle von Phosphorintoxication mit tödtlichem Ausgange den Oxyhämoglobingehalt des Blutes gleich wie bei Gesunden (14.9 Proc.) und es ist das durch Phosphor veränderte „fettig entartete“ Plasmaeiweiss der Gewebe, welches trotz des vorhandenen Sauerstoffes die Oxydationen nicht mehr zu bewirken vermag. Auf der Höhe der Intoxication hört die Oxydation gänzlich auf, wie dies aus dem Versuche II hervorgeht. Wird dem Thiere, wie das im Versuche III der Fall ist, Benzol beigebracht, noch bevor die Veränderung der Organe weit vorgeschritten ist, so finden wohl die Oxydationen, wenn auch mit verminderter Intensität statt. Folgende Tabelle veranschaulicht den Einfluss des Phosphors auf die physiologische Oxydation:

| | Phenol nach 1.0 Benzol | | Phosphordose | Erfolgter Tod in Stunden | |
|---|---|---|---|---|---|
| | a normal | b nach Phosphor | | a nach Phosphorinjection | b nach Benzolinjection |
| 1 | 0.1498 g | 0.0079 g | 0.0425 g | 35 | 27 |
| 2 | 0.1008 „ | nicht wägbar | 0.05 „ | 25 | 17 |
| 3 | 0.2627 „ | 0.1591 g | 0.025 „ | 96 | 82 |

Die nun nicht mehr zu bezweifelnde Thatsache, dass durch Phosphorintoxication im Organismus die Oxydation aufgehoben wird, machte es wünschenswerth, auch die Wirkung des Arsens auf den Verlauf der Verbrennung im Thierkörper zu prüfen.

[1]) Virchow's Archiv **54**, 537 (1872).

Die durch acute Arsenvergiftung hervorgerufenen Veränderungen der Organe sind denen durch Phosphor erzeugten ziemlich ähnlich. Neben der hochgradigen Entzündung der Magen- und Darmschleimhaut wurde nach acuter Vergiftung mit Arsen die Fettentartung im Muskelgewebe in der Leber, sowie den Nieren constatirt und Virchow beschrieb eine Degeneration der Magendrüsen nie bei acuter Phosphorvergiftung; allerdings sind bei Arsen derartige Aenderungen des Stoffwechsels wie nach Phosphorintoxicationen nicht beobachtet worden. Bei protrahirter und nicht tödtlich endigender Intoxication eines Hundes kommt Dr. H. v. Boeck[1]) zu dem Ergebniss, dass die arsenige Säure auf Stickstoffumsatz und Eiweisszersetzung keinen wesentlichen Einfluss ausübt.

Unsere Versuche, sowohl mit arseniger wie mit Arsensäure ergaben das interessante Resultat, dass selbst tödtliche Dosen des Arsens keinen Einfluss auf die Oxydation des Benzols zu Phenol haben.

I. Ein grosses Kaninchen, das normaler Weise nach Injection von 1.0 g Benzol 0.3068 g Phenol ausgeschieden hatte, erhielt einige Tage später, 9 Uhr Morgens, 0.01 g arsenigsaures Kali und eine Stunde später 1.0 g Benzol subcutan injicirt. Das Thier bekam sehr bald Meteorismus, entleert mehrere, zuerst gewöhnliche, später weiche ungeformte Kothmassen, bekommt Durchfall, Thränenfluss und liegt apathisch auf dem Bauche. Gegen Abend erholt es sich sichtlich, fängt an zu fressen, worauf es wieder 0.005 g arsenigsaures Kali erhält. Am folgenden Tage frisst das Thier nichts, trinkt viel Wasser und hat Durchfälle. Im Laufe des Vormittags wurden ihm wieder 0.005 g arsenigsaures Kali injicirt. Im Ganzen erhielt also das Thier innerhalb 24 Stunden 0.02 g arsenigsaures Kali. Die in 48 Stunden gesammelte Harnmenge betrug nur 61 ccm und darin 0.2163 g Phenol. Am dritten Tage war das Thier sehr schwach, versucht etwas zu fressen, hat fortwährend Durchfälle. In der Nacht des vierten Tages starb das Kaninchen. Der in den letzten zwei Tagen gesammelte Harn enthielt noch 0.1221 g Phenol.

II. Ein Kaninchen, 2560 g schwer, das wir später zu dem oben mitgetheilten Phosphorversuche benutzten und das normaler Weise aus 1.0 g Benzol 0.2627 g Phenol oxydirte, erhält früh, 8 Uhr Morgens, 1 ccm 1.5 proc. Lösung von arsensaurem Kali = 0.015 g des Salzes. Da bis Mittag keine Vergiftungserscheinungen eintraten, so erhält das Thier um 12 Uhr 0.008 g arsensaures Kali und gleichzeitig 1.0 g Benzol; am Abend des gleichen Tages werden dem Kaninchen noch 0.015 g des Salzes injicirt. Am zweiten Tage ist das Thier traurig, frisst wenig, dagegen trinkt es viel Wasser und hat Durchfall, sonst keine Vergiftungserscheinungen. Gegen Abend wird das Thier munterer und frisst mehr, am dritten Tage ist das Thier ziemlich erholt und sein Harn enthält kein Phenol mehr. Der nach Benzolinjection bis zum Verschwinden des Phenols gesammelte Harn enthält 0.2749 g Phenol. Wie aus folgender Zusammenstellung ersichtlich, verursacht weder die Arsensäure, wo die Vergiftung eine leichte war, noch die arsenige Säure, wo das Thier zu Grunde ging, eine Herabsetzung der Oxydation.

---

[1]) Untersuchungen über die Zersetzung des Eiweisses im Thierkörper unter dem Einflusse von Morphium, Chinin und arseniger Säure von Dr. H. v. Boeck. München 1871.

| | Phenol nach 1.0 g Benzol | | | Ausgang der Vergiftung |
|---|---|---|---|---|
| | a normal | b nach $AsO_3H_3$ | c nach $AsO_4H_3$ | |
| 1 | 0.3068 g | 0.3384 g | — | Tod nach 84 Stunden. |
| 2 | 0.2627 „ | — | 0.2748 g | Erholung. |

Man könnte nur den Einwand erheben, dass in Folge der Darmentzündung auch die Darmfäulniss intensiver wurde und darauf scheint uns die um etwas vermehrte Phenolausscheidung nach der Vergiftung mit arseniger Säure hinzudeuten. Wir glauben jedoch nicht, dass bei dem hungernden Thiere die in Folge intensiverer Darmfäulniss entstandene Phenolmenge so gross sein könnte, um das Versuchsresultat wesentlich zu beeinflussen.

Ganz anders als die Arsenpräparate beeinflussen die Salze schwerer Metalle die physiologische Oxydation. Professor Luchsinger machte uns darauf aufmerksam, dass Herr Hess in seinem Laboratorium die Einwirkung der Kupfervergiftung auf die Intensität der Oxydationen an Kaninchen untersuchte und entsprechend der starken Temperaturabnahme der Thiere auch die $CO_2$-Ausscheidung bis auf die Hälfte des Normalen sinken sah. Auch hat Herr Hess mittelst Benzol die Oxydationskraft des Organismus geprüft und unter dem Einflusse von Kupfer- und Platinsalzen eine viel geringere Phenolmenge aus dem Harne gewinnen können als normaler Weise. Herr Brzeziński hat den Versuch des Herrn Hess mit weinsaurem Kupferoxydnatron wiederholt und seine Beobachtung bestätigen können. Ein grosses Kaninchen, 3069 g schwer, das schon früher zu Versuchen über den Einfluss der Nahrung auf die Benzoloxydation diente und das bei gemischtem Futter 0.331 g Phenol aus 1.0 g Benzol bildete, erhält Morgens 10 Uhr 0.03 g weinsaures Kupferoxydnatron und zwei Stunden später 1 g Benzol, beides subcutan injicirt. Am gleichen Tage Abends 6 Uhr noch 0.02 g und am folgenden Tage Morgens 9 Uhr wiederum 0.03 g des Kupfersalzes, im Ganzen also 0.08 g. Das Thier ist ein wenig traurig, doch frisst es während der ganzen Zeit und erholt sich später vollständig. Dagegen war die Menge des ausgeschiedenen Phenols etwa um die Hälfte geringer. Der innerhalb 48 Stunden bis zum Aufhören der Phenolausscheidung gesammelte Harn = 205 ccm enthielt 0.1695 g Phenol.

Zu interessanten Resultaten hat uns die Untersuchung der Wirkung der Anästhetica auf die Oxydation des Benzols im Organismus geführt. Veranlasst dazu wurden wir durch die schönen Untersuchungen Cl. Bernard's[1]: „Ueber die Art der Wirkung der Anästhetica auf Pflanzen und Thiere.“ Nach ihm wirkt das anästhesirende Mittel nicht ausschliesslich auf das Nervensystem; seine Wirkung erstreckt sich vielmehr auf die sämmtlichen Gewebe des Organismus . . . . „tous les tissus répondent de la même manière à l'action de l'agent anesthésique: il y a dans

[1]) Leçons sur les phénomènes de la vie. Paris. 1878. p. 250 ff.

tous une même propriété essentielle dont le jeu est suspendu; cette propriété c'est l'irritabilité du protoplasma." Nach Cl. Bernard wird die Irritabilität des Protoplasmas deshalb aufgehoben, weil es durch die anästhesirende Substanz zum Gerinnen gebracht wird . . . . „si l'on place un muscle dans des vapeurs d'éther, ou si l'on injecte dans le tissu musculaire de l'eau légèrement éthérée, on amène après un certain temps la rigidité définitive du muscle; le contenu de la fibre est coagulé. Mais, avant c'est état extrème, il arrive un moment où le muscle a perdu son excitabilité; il est anethésie. Si alors on examine la fibre musculaire au microscope, on voit que son contenu n'est plus transparent, qu'il est opaque et dans un état de semi-coagulation."

Wenn das lebendige Protoplasma der wichtigste Factor bei den Oxydationen in den Geweben ist, so müsste eine so greifbare, wenn auch vorübergehende Veränderung durch Aether, wie sie Claude Bernard beschreibt, nothwendig eine verminderte Oxydation zur Folge haben. Diese Voraussetzung haben wir nicht allein für Aether, sondern auch für Chloroform und Chloral bestätigt gefunden.

Das Kaninchen, 3069 g schwer, das uns zu den früheren Versuchen über den Einfluss des Futters sowie zu der Kupfervergiftung diente, erhält Morgens 9 Uhr 1.0 g Benzol und wird eine viertel Stunde später durch Einathmen von Aether eine Stunde lang in Schlaf versetzt. Nachmittags 2 Uhr wird dem Thier der Harn entnommen, worauf es wieder eine Stunde lang in Aethernarkose versetzt wird. Die Phenolausscheidung dauerte in diesem Versuche 82 Stunden. Zwei Wochen später wurde dem Thiere von Neuem 1.0 g Benzol injicirt und die ausgeschiedene Phenolmenge bestimmt; der Einfluss des Aethers auf Oxydation ist aus folgenden Zahlen ersichtlich:

| Unter dem Einflusse der Aethernarkose oxydirte das Kaninchen aus 1.0 g Benzol: | Phenol in g | Aus 1.0 g Benzol oxydirte das Kaninchen normal: |
|---|---|---|
| in den ersten 24 Stunden | 0.1179 | 0.2652 |
| „ „ zweiten „ „ | 0.0837 | 0.0881 |
| „ „ dritten „ „ | 0.0284 | 0.0130 |
| „ „ letzten 10 „ | 0.0172 | — |
| Total | 0.2472 | 0.3663 |

Die Menge des Phenols ist also um ein Drittheil vermindert und zwar ist die Intensität der Oxydation speciell an dem ersten Tage, wo das Thier ätherisirt wurde, herabgesetzt. In den folgenden 24 Stunden bildete das Kaninchen genau so viel Phenol wie normal. Noch prägnanter tritt der Einfluss des Aethers auf das lebendige Plasma in folgendem Versuche hervor, wo die Menge des ausgeschiedenen Phenols einerseits gleich nach der Narkose, andererseits normal in kurzen Zeitintervallen bestimmt wurde.

Ein junges, im Laboratoriumsstall aufgewachsenes Kaninchen, 2580 g schwer, erhält Morgens 9 Uhr 1 g Benzol und wird 15 Minuten später eine Stunde lang ätherisirt. Der in den ersten fünf Stunden hierauf entnommene Harn = 23 ccm enthält 0.01292 g Phenol. Um 2 Uhr Mittags wird das Thier abermals mittelst Aether eine Stunde lang in Schlaf versetzt. Der um 7 Uhr Abends entnommene Harn = 10 ccm enthält 0.0085 g Phenol. Der in den folgenden 14 Stunden

= 30 ccm enthält 0.0709 g Phenol; endlich in 75 ccm des Harns von folgenden 24 Stunden sind 0.0126 g Phenol. Der spätere Harn war phenolfrei.

Das gleiche Kaninchen erhält eine Woche später, Morgens 9 Uhr, wiederum 1 g Benzol. Der in den ersten fünf Stunden nach der Benzolinjection entnommene Harn = 27 ccm enthält 0.0602 g Phenol. Der von 2 Uhr Mittags bis um 7 Uhr Abends gebildete Harn = 17 ccm enthält 0.0909 g Phenol. Der Harn von folgenden 14 Stunden = 20 ccm enthält 0.0810 g Phenol. In den 49 ccm Harn von den folgenden 24 Stunden waren 0.0258 g Phenol und in den 62 ccm von den letzten 10 Stunden 0.0064 g Phenol.

Demnach bildete das Kaninchen

| unter dem Einflusse des Aethers | | normal |
|---|---|---|
| in den ersten 5 Stunden (1 Stunde Schlaf) | 0.0129 g | 0.0602 g Phenol in den ersten 5 Stunden |
| in den folgend. 5 Stunden (1 Stunde Schlaf) | 0.0085 g | 0.0909 „ „ „ „ folgenden 5 Std. |
| in den folgenden 14 Stunden | 0.0709 „ | 0.0810 „ „ „ „ „ 14 „ |
| „ „ „ 24 „ | 0.0126 „ | 0.0258 „ „ „ „ „ 24 „ |
| | | 0.0064 „ „ „ „ „ 10 „ |
| Total | 0.1049 g | 0.2643 g Phenol. |

Das junge Thier oxydirte im Ganzen unter dem Einflusse von Aether 1½ mal weniger als wie normal und zwar in den ersten fünf Stunden sechs Mal und in den folgenden fünf Stunden mehr wie zehn Mal weniger. Wie rasch vorübergehend der Einfluss des Aethers auf die Oxydation ist, zeigen die fast gleichen Mengen des in den nächsten 14 Stunden ausgeschiedenen Phenols bei beiden Versuchen. In zwei anderen Versuchen mit Aether erhielten wir das gleiche Resultat, so dass, um Wiederholung zu vermeiden, wir die Mittheilung der Zahlen unterlassen.

Gleich wie Aether, setzt auch das Chloroform, das nach den Beobachtungen von Kussmaul und H. Ranke die contractile Substanz der Muskeln ebenfalls in einen Zustand der Gerinnung überführt, die Oxydation in den Geweben herab.

Ein grosses Kaninchen — Halbhase — 3680 g schwer, erhält Morgens 9 Uhr 1 g Benzol und wird zehn Minuten später eine Stunde lang chloroformirt. 2 Uhr Mittags wird das Thier katheterisirt und wiederum eine Stunde lang mittelst Chloroform in Schlaf versetzt. Der in den ersten zehn Stunden nach der Benzolinjection entnommene Harn enthielt 0.0665 g Phenol. Der bis zum nächsten Tage 9 Uhr Morgens gebildete Harn = 38 ccm enthält 0.1032 g Phenol. Der in den folgenden 24 Stunden = 84 ccm enthält 0.0316 g Phenol. Der spätere Harn war phenolfrei.

Vier Tage später erhält das gleiche Thier wiederum 1 g Benzol. Der in den ersten zehn Stunden nach der Benzolinjection erhaltene Harn = 115 ccm enthält 0.1769 g Phenol. In den folgenden 14 Stunden = 39 ccm Harn 0.1061 g Phenol. In den folgenden 24 Stunden = 88 ccm 0.0176 g Phenol. Auch hier war alles Phenol innerhalb 48 Stunden ausgeschieden. Im Ganzen hat also das Kaninchen gebildet:

| | a. Chloroformnarkose | b. normal |
|---|---|---|
| 1. in den ersten 10 Stunden | 0.0665 g Phenol | 0.1769 g Phenol |
| 2. „ „ folgenden 14 „ | 0.1032 „ „ | 0.1061 „ „ |
| 3. „ „ „ 24 „ | 0.0316 „ „ | 0.0176 „ „ |
| | 0.2013 g Phenol. | 0.3006 g Phenol. |

Die Intensität der Oxydation ist in diesem Versuche um ein Dritttheil herabgesetzt und ähnlich wie in den Versuchen mit Aether nur in den ersten Stunden nach der Chloroformnarkose.

Auch Chloralhydrat, das in erster Linie hypnotisch wirkt und erst in grösseren Gaben Anästhesie erzeugt, setzt die Oxydation in den Geweben herab. Um einige Stunden anhaltenden Schlaf hervorzurufen, mussten wir den Kaninchen Dosen nicht unter 1.5 g injiciren. Da zu erwarten war, dass auch hier nur während des Schlafes die Oxydation geschwächt werde, so haben wir in dem in den ersten fünf Stunden nach der Benzolinjection entnommenen Harne das Phenol besonders bestimmt.

Ein grosses Kaninchen, 2785 g schwer, erhält Morgens halb 10 Uhr 1.0 g Benzol, 1/4 Stunde später 1.0 g Chloralhydrat subcutan injicirt. Das Thier zeigt grosse Müdigkeit, schläft jedoch nicht, weshalb es 25 Minuten später noch 0.8 g Chloral erhält. Zehn Minuten nachher verfällt es in einen tiefen Schlaf, der vier Stunden anhielt und aus welchem das Thier nur für Momente durch Rütteln erweckt werden konnte. Der um halb 3 Uhr entnommene Harn = 58 ccm enthält 0.0320 g Phenol. Harn von folgenden 19 Stunden = 172 ccm enthält 0.1871 g Phenol. In dem Harne von den folgenden 24 Stunden waren 0.0179 g Phenol. Fünf Tage später bildete das Kaninchen nach 1 g Benzol in den ersten fünf Stunden 0.0718 g Phenol, in den folgenden fünf Stunden 0.0588 g Phenol; in den darauf folgenden 14 Stunden 0.0862 g und in den weiteren 24 Stunden 0.1072 g Phenol.

Die Oxydation war in diesem Versuche folgende:

| | nach Chloralhydrat | normal |
|---|---|---|
| in den ersten 5 Stunden (4 Stunden Schlaf) | 0.0320 | 0.0718 g Phenol |
| „ „ folgenden 19 Stunden | 0.1871 | 0.1450 „ „ |
| „ „ „ 24 „ | 0.0179 | 0.1072 „ „ |
| | Total 0.2370 | 0.3240 g Phenol. |

Ein mittelgrosses Kaninchen, 2497 g schwer, bekommt Morgens halb 10 Uhr 1.0 g Benzol und eine Viertelstunde später 1.6 g Chloralhydrat. Kurz darauf verfällt das Thier in einen tiefen, drei Stunden lang dauernden Schlaf. Es traten hier alle die bedrohlichen Symptome der Chloralvergiftung ein: Sinken der Körpertemperatur, starke Abnahme der Respirationsfrequenz und der Herzthätigkeit und kühle Extremitäten, so dass wir eine Zeit lang an dem Aufkommen des Kaninchens zweifelten. Der Harn von den ersten fünf Stunden enthielt 0.0102 g Phenol. Im Harne von den nächsten 19 Stunden waren 0.1473 g Phenol. In den folgenden 24 Stunden 0.0516 g Phenol, der später erhaltene Harn war phenolfrei. Fünf Tage später hatte das gleiche Kaninchen nach Injection von 1.0 g Benzol in den ersten fünf Stunden 0.0462 g Phenol im Harne. In den darauf folgenden 19 Stunden 0.2872 g Phenol und in den folgenden 24 Stunden 0.0188 g Phenol. Die Oxydation gestaltete sich also hier folgenderweise.

Es oxydirte das Kaninchen unter dem Einflusse

| | von Chloralhydrat | normal |
|---|---|---|
| in den ersten 5 Stunden | 0.0102 g | 0.0462 g Phenol |
| „ „ folg. 19 „ | 0.1473 „ | 0.2872 „ „ |
| „ „ „ 24 „ | 0.0516 „ | 0.0188 „ „ |
| | Total = 0.2091 g | = 0.3522 g Phenol. |

Man könnte einwenden, dass Aether und Chloroform deshalb die Oxydationen in den Geweben herabsetzen, weil sie die Träger des Sauerstoffs — die rothen Blutzellen — zerstören, wodurch den Geweben nicht hinreichend Sauerstoff zugeführt wird. Nach C. A. Ewald[1]) haben Hunde, welche in starker Morphiumnarkose sich befinden, einen bis auf die Hälfte und noch etwas mehr verringerten Sauerstoffgehalt des Blutes. Allein wir wissen, dass ebenso wie das arterielle Blut nicht mit Sauerstoff völlig gesättigt ist, auch das venöse neben sauerstofffreiem auch sauerstoffhaltiges (Oxy-)Hämoglobin enthält. Schoeffer[2]) fand im Mittel aus fünf Doppelanalysen für das arterielle Blut 19.2 Vol.-Proc., für das venöse 11.9 Vol.-Proc. Sauerstoff. Die Differenz beider Blutarten beträgt demnach 7.3 Vol.-Proc. Mittelst der spectrophotometrischen Methode constatirte Hüfner[3]) einen relativ noch höheren Sauerstoffgehalt im venösen Blute; auch war in den Versuchen von Ewald in Folge der Morphium- oder Chloroformnarkose das Venenblut nicht oxyhämoglobinfrei, sondern die normale Differenz im Sauerstoffgehalte zwischen Arterien- und Venenblut wurde geringer gefunden. Der Harn unserer anästhesirten Versuchsthiere enthielt weder Hämoglobin noch Eiweiss überhaupt. Danach halten wir es für viel wahrscheinlicher, dass nicht Mangel an Sauerstoff, sondern die veränderte chemische Beschaffenheit des Protoplasmas durch Aether, Chloroform oder Chloral die Ursache der geringeren Oxydation ist. Zweifellos aber ist die herabgesetzte Oxydationsintensität nach Phosphor- und Kupfervergiftung die Folge einer specifischen Wirkung dieser Gifte auf das lebendige Protoplasma; worunter wir, in Uebereinstimmung mit Loew und Bokorny, nur einen bestimmten, aus labilem Moleküle bestehenden Eiweissstoff verstehen und alle übrigen im Protoplasma vorkommenden Stoffe lediglich als Beimengungen von grösserer oder geringerer Bedeutung für das Leben der Zelle betrachten. Gerade der Umstand, dass eine so minimale Menge Phosphor, in die Gewebe gebracht, Schwund des protoplasmatischen Eiweisses in den Zellen zur Folge hat, kann nach dem Stande unseres Wissens nur durch die analogen Erscheinungen in der Chemie verstanden werden. Durch minimale Mengen von Alkali, Säure, Metallsalzen, Erwärmen u. s. w. geschieht die Polymerisation der labilen Moleküle von Aldehyden und Cyanverbindungen. Auf Atomverschiebung im Molekül beruht der Uebergang der Cyansäure in Cyanursäure, des Cyanamids in Dicyanamid und Melamin, des Aldehyds in Paraldehyd und weitere Condensationsproducte. Möglich, dass bei derartigen intra-molekularen Atomverschiebungen im lebendigen Eiweissmolekül auch Wasseraustritt stattfindet, ähnlich wie bei der Bildung des Crotonaldehyds oder den Condensationen von Aldehyden mit Aminen. In dem labilen protoplasmatischen Eiweissmolekül müssen derartige Atomverschiebungen an mehreren Orten stattfinden können. Denn auch das todte, aus dem Zellinhalt extrahirbare Eiweiss enthält noch solche bewegliche Atomgruppen, wie dieses aus dem Verhalten neutraler Eiweisslösungen beim Erwärmen auf 40 bis 60° — der Gerinnung — ersichtlich ist.

---

[1]) C. A. Ewald, Archiv f. Anat. und Physiol. **3**, 1876.

[2]) A. Schoeffer, Sitzungsber. d. Wiener Akad. **41**, 589, 1860.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **3**, 17.

Die wichtigste Leistung lebendiger Wesen, ja geradezu das charakteristische Kennzeichen des Lebens selbst, ist die Bildung solcher labilen Eiweissmoleküle. Früher oder später werden wir den todten Eiweissstoffen ähnliche oder auch damit identische Materien in Laboratorien künstlich darstellen können, aber damit schwerlich viel Aufklärung über den Mechanismus des Lebens gewinnen. Erst wenn wir wissen, wie der molekulare Bau der protoplasmatischen labilen Eiweissstoffe in Wirklichkeit ist, wird die experimentelle Grundlage zur Erkenntniss der mannigfachen Phänomene des Lebens gefunden sein. Pflanzen und die einzelligen Fermentorganismen bauen das labile Eiweissmolekül aus einfachen Verbindungen auf. Ob in thierischen Geweben die chemische Veränderung des todten Nahrungseiweisses in lebendiges einfach durch intramolekulare Atomverschiebung geschieht, wissen wir nicht. Wahrscheinlich erscheint es uns, dass ähnlich wie in der Pflanzen- so auch in der Thierzelle der Aufbau des labilen Eiweissmoleküls aus einfacheren Atomgruppen geschieht. Loew und Bokorny haben nachgewiesen, dass die Reduction alkalischer Silberlösungen in den Zellen von dem labilen Eiweissmolekül herrührt, dass folglich diese eine leicht oxydable, stark reducirende Substanz ist. Wir haben schon in unserer letzten Arbeit darauf hingewiesen, dass die Bildung des atomistischen Sauerstoffes in den Geweben in Folge der Selbstverbrennung des labilen, stark reducirenden Eiweissmoleküls geschieht. Es muss dabei ein ähnlicher Vorgang stattfinden, wie dies bei vielen Aldehyden, mehratomigen Phenolen, Leukoverbindungen vieler Farben, Oxydulsalzen u. s. w. der Fall ist. Indem diese Körper schon durch molekularen Sauerstoff oxydirt werden, spalten sie gleichzeitig atomistischen Sauerstoff ab, wie z. B. $C_6H_5—CHO + O_2 = C_6H_5—CO_2H + O_1$. Dadurch werden die ausser dem labilen Eiweiss in den Zellen enthaltenen, nur durch den atomistischen Sauerstoff oxydirbaren Substanzen, wie etwa das eingeführte Benzol, verbrannt. Ob die in den Zellen enthaltenen Dextrose und Fett nur auf die Weise verbrannt werden, oder ob auch diese Materien behufs ihrer Verbrennung vielleicht nur theilweise in stark reducirende labile Moleküle übergeführt werden, ist noch eine offene Frage. Der Umstand, dass ein Fettderivat — das in allen Zellen vorhandene, leicht zersetzliche Lecithin — viel leichter als die Fette durch molekularen Sauerstoff oxydirt wird, scheint für die zweite Annahme zu sprechen.

Die Resultate unserer jetzigen Untersuchung sind ein schwerwiegender Beweis zu Gunsten der Ansicht, dass gerade das labile Eiweissmolekül diejenige Materie ist, mittelst welcher der atomistische Sauerstoff in den Zellen entsteht. In der That, die meisten Gifte, welche die Oxydation in den Geweben herabsetzen, tödten nach den Loew'schen Versuchen auch das labile, protoplasmatische Eiweiss. „Bleiben von anhängendem Wasser befreite Spirogyren kurze Zeit in Aether- oder Chloroformdunst liegen, so wird der Plasmaschlauch contrahirt und die Fähigkeit, Silber zu reduciren, ist vollständig vernichtet." Von den Metallsalzen hebt Kupfervitriol die Reductionsfähigkeit des labilen Eiweisses der Spirogyren viel rascher als wie Zinkvitriol oder Bleizucker. Arsensäure in 1 proc. Lösung hatte nach 20 Minuten bei Sp. orthospira, nitida und communis die Reagirfähigkeit vernichtet; arsenige Säure von 1 Proc. Gehalt wirkte langsamer. In unseren Versuchen wurde durch die beiden Säuren die Intensität der Oxydationen nicht herabgesetzt. Das thierische labile

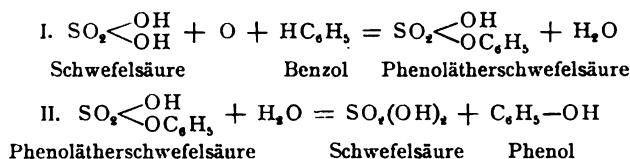
Eiweiss wäre demnach gegen die Arsenpräparate resistenter als wie das der Spirogyrafäden. Ein Umstand, der schon von Loew hervorgehoben wird, indem er daran erinnert, dass Schimmelpilze in verdünnten Lösungen arseniger Säure gedeihen können.

Schmiedeberg[1]) hat die Ansicht ausgesprochen, dass das Wesen der Oxydation im Thierkörper in einer Synthese unter Wasseraustritt zu suchen ist, bei welcher der erforderliche Sauerstoff vom Blute hergegeben wird. „Die Oxydation geht aus der Synthese unter Wasseraustritt hervor.“ Der Vorgang bei der Oxydation des Benzols zu Phenol wird von Schmiedeberg folgendermaassen aufgefasst:

$$\text{I.}\quad SO_2{<}^{OH}_{OH} + O + HC_6H_5 = SO_2{<}^{OH}_{OC_6H_5} + H_2O$$

Schwefelsäure — Benzol — Phenolätherschwefelsäure

$$\text{II.}\quad SO_2{<}^{OH}_{OC_6H_5} + H_2O = SO_2(OH)_2 + C_6H_5{-}OH$$

Phenolätherschwefelsäure — Schwefelsäure — Phenol

Die Theorie Schmiedeberg's erklärt nicht die Entstehung des atomistischen Sauerstoffs in den Geweben, deren Mitwirkung für das Zustandekommen der Oxydationen auch von Schmiedeberg als durchaus erforderlich constatirt wird. Sie setzt den atomistischen Sauerstoff, wie aus obigem Beispiele ersichtlich, voraus. Wir kennen ferner eine Reihe von Oxydationen im Organismus, wie z. B. des Toluols, des Aethylbenzols, des Acetophenons u. s. w., wo die Umwandlung des Kohlenwasserstoffs zu Carboxyl jeder eventuellen Synthese vorausgeht. Die Richtigkeit der Ansicht Schmiedeberg's vorausgesetzt, müssten in allen den Fällen, wo in unseren Versuchen die Intensität der Oxydationen herabgesetzt oder aufgehoben wurde, auch die synthetischen Processe entsprechend vermindert sein. Wir haben deshalb die nach Eingabe gleicher Mengen von Phenol oder Resorcin ausgeschiedenen Aetherschwefelsäuren einerseits normal, andererseits unter Einfluss von Aether und Phosphor bestimmt.

Ein grosses Kaninchen, das schon zu den früheren Versuchen über den Einfluss des Futters, der Kupfervergiftung und der Aethernarkose benutzt war und das jetzt 3020 g wog, erhält Morgens 9 Uhr, nachdem ihm die Blase vorher entleert wurde, 0.04 g Phenol in 2 proc. Lösung subcutan injicirt. In der 24stündigen Harnmenge = 107 ccm war bereits alles eingegebene Phenol ausgeschieden, gefunden für 107 ccm Harn 0.041 g Phenol. — In 50 ccm des Harns waren 0.4775 g $SO_4H_2$ der Salze = 1.0218 g $SO_4H_2$ in 24 Stunden 0.0282 g $SO_4H_2$ gepaart = 0.0603 g in 24 Stunden. Das Verhältniss der Schwefelsäure der Salze zu den Aetherschwefelsäuren ist hier = 18.9 : 1.

6 Tage später wird an dem gleichen Thier der Versuch wiederholt, nur mit dem Unterschiede, dass das Kaninchen 10 Minuten nach der Phenolinjection 1 Stunde lang in Aethernarkose versetzt wurde. Nachmittags 2 Uhr und Abends 8 Uhr wurde das Thier ebenfalls je 1 Stunde lang ätherisirt. Die 24stündige Harnmenge war jetzt 85 ccm, wovon 35 ccm zur Phenolbestimmung und 50 ccm zur $SO_4H_2$-Bestimmung verwendet wurden. — Das jetzt ausgeschiedene Phenol war = 0.02855 g,

[1]) Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie **14**, 288. 1881.

also nur etwa $^{1}/_{4}$ von dem eingegebenen. Die 24stündige Menge der $SO_4H_2$ der Salze war = 0.4810 g, die der Aetherschwefelsäure = 0.0770 g. Das Verhältniss der beiden Schwefelsäuren ist hier = 6.51 : 1.

Unter dem Einflusse des Aethers hat das Kaninchen genau so viel Aetherschwefelsäuren ausgeschieden wie normal. Die Schwefelsäure der Salze ist unter Aethereinfluss vermindert, aus dem einfachen Grunde, weil die Thiere in Folge der Aetherisation während der Versuchszeit nichts fressen. Bemerkenswerth ist noch, dass das Kaninchen im ersten Versuche alles Phenol allem Anscheine nach unverändert ausgeschieden hat, ohne es zu Brenzcatechin resp. Hydrochinon zu oxydiren.

Da in dem obigen Versuche die Menge des eingegebenen Phenols viel zu gering war, um eine erhebliche Vermehrung der Aetherschwefelsäuren im Harne zu bewirken, so haben wir in den folgenden Versuchen grössere Dosen des weniger giftigen Resorcins angewendet.

Ein junges Kaninchen, 2580 g schwer, das schon zu den früheren Versuchen mit Aether benutzt war, erhält subcutan 0.5 g Resorcin in 25 proc. Lösung. Der hierauf in 24 Stunden gebildete Harn = 184 ccm enthielt 1.0561 g $SO_4H_2$ der Salze und 0.1111 g $SO_4H_2$ gepaart. Das relative Verhältniss der beiden Schwefelsäuren zu einander ist also hier = 9.5 : 1.

Gleiches Kaninchen erhielt 4 Tage später wiederum 0.5 g Resorcin injicirt und wird 10 Minuten später 1 Stunde lang durch Einathmen von Aether in Schlaf versetzt. 5 Stunden später wird das Thier von Neuem eine Stunde lang ätherisirt. Der jetzt innerhalb der 24 Stunden erhaltene Harn, 110 ccm, enthält 0.6443 g $SO_4H_2$ der Salze und 0.1212 g gepaarte $SO_4H_2$. Das Verhältniss der beiden Säuren zu einander ist hier = 5.3 : 1.

Da in diesem Versuche auf einmalige Injection von 0.5 g Resorcin bedenkliche Vergiftungssymptome hervortraten und wir andererseits erwarteten, dass, falls das Resorcin dem Thiere in kleineren Dosen einverleibt wird, die Menge der Aetherschwefelsäuren im Harne grösser sein könnte, so haben wir den Versuch in einer entsprechend veränderten Weise wiederholt.

Das Kaninchen, 2785 g schwer, das früher zu dem Versuche mit Chloral benutzt wurde, erhält Morgens halb 10 Uhr 0.25 g Resorcin und 5 Stunden später die gleiche Dosis in 25 proc. Lösung subcutan. Die 24stündige Harnmenge = 358 ccm enthielt 1.0552 g $SO_4H_2$ der Salze und 0.1713 g Aetherschwefelsäure. Das Verhältniss der beiden Säuren ist hier = 6.1 : 1.

4 Tage später erhält das gleiche Thier 0.25 g Resorcin und wird hierauf 1 Stunde lang durch Einathmen von Aether in Schlaf versetzt. 5 Stunden später erhält es wiederum 0.25 g Resorcin und wird ebenfalls 1 Stunde lang ätherisirt. Die 24stündige Harnmenge = 190 ccm enthielt 0.7059 g $SO_4H_2$ der Salze und 0.1467 g $SO_4H_2$ gepaart. Das Verhältniss der beiden Säuren zu einander ist = 4.8 : 1.

Wie man sieht, sind sowohl nach kleinen wie nach grossen Gaben von Substanzen, welche als Aetherschwefelsäuren ausgeschieden werden, die Mengen der gepaarten Schwefelsäuren in Folge der Aethernarkose die gleichen wie normal; denn die geringen Differenzen liegen in den Grenzen der normalen Tagesschwankungen

und sind sowohl positiv wie negativ. Diese Thatsache widerspricht der Annahme, dass „Oxydation und Paarung Hand in Hand gehen". Man könnte nur einwenden, dass bei den Pflanzenfressern nur ein geringer Theil des Phenols und Resorcins mit Schwefelsäure, der grösste Theil aber mit der Glycuronsäure sich paart, die wir nicht bestimmt haben. Es ist sicher, und Schmiedeberg hat es nachgewiesen, dass die Oxyverbindungen nie als solche, sondern entweder mit Schwefelsäure oder Glycuronsäure oder vielleicht noch anderen Substanzen gepaart ausgeschieden werden und es wäre denkbar, dass der Aether in erster Linie die Paarung mit Glycuronsäure beeinflusst. Wir haben uns deshalb veranlasst gesehen, den Einfluss des Phosphors, welcher auf der Höhe der Intoxication fast gänzlich die Oxydationen aufhebt, auf die synthetischen Processe im Organismus zu untersuchen.

Zunächst haben wir constatirt, dass bei der Phosphorvergiftung gepaarte Schwefelsäuren überhaupt gebildet werden.

Ein grosses Kaninchen erhält Nachmittags 5 Uhr 0.05 g Phosphor in Oel gelöst subcutan. Am folgenden Tage Morgens 8 Uhr liegt das Thier apathisch auf dem Bauche und frisst nicht. Das Kaninchen wird katheterisirt, der Harn weggeworfen und nur der bis Abends 8 Uhr erhaltene für die Schwefelsäurebestimmung verwendet. In der Nacht des gleichen Tages starb das Thier. Der erhaltene Harn = 63 ccm wurde enteiweisst, das Filtrat auf 100 ccm verdünnt und darin die Schwefelsäuren bestimmt. Gef. 0.1222 g $SO_4H_2$ der Salze und 0.0154 $SO_4H_2$ gepaart. Das Verhältniss der beiden Säuren zu einander ist = 8 : 1.

Bei einem anderen grossen Kaninchen wurde zunächst zwei Tage vorher die Schwefelsäure der Salze, sowie die gepaarte bestimmt. Das relative Verhältniss der Säuren zu einander war am ersten Tage = 14.3 : 1. Am zweiten Tage, wo der Harn nur 0.0029 g gepaarte $SO_4H_2$ enthielt, = 33 : 1. Am dritten Tage erhielt das Kaninchen Abends 7 Uhr 0.035 g Phosphor und am folgenden Tage Nachmittags 4 Uhr, also erst nach 21 Stunden seit der Intoxication, 0.06 g Phenol. In der Nacht ist das Kaninchen gestorben. Die Section ergab das gewöhnliche Bild der Phosphorvergiftung. Die Leber nicht besonders vergrössert, brüchig, Leberzellen verfettet, zahlreiche Ecchymosen, Darmmucosa und Nieren entzündet. Magen überfüllt. In der Harnblase 25 ccm eiweiss- und gallenfarbstoffhaltigen Harns, welche mit den seit 4 Uhr vorigen Tages erhaltenen 50 ccm vereinigt und zur $SO_4H_2$-Bestimmung verwendet wurden. In dem Gesammtharne = 75 ccm gef. $SO_4H_2$ der Salze = 0.0694 g und 0.0252 $SO_4H_2$ gepaart. Das Verhältniss der beiden Säuren zu einander = 2.75 : 1.

Das Kaninchen, 2785 g schwer, das zu den Versuchen mit Chloral und Resorcin benutzt war, erhält wenige Tage nach dem Resorcinversuch Abends 7 Uhr 0.04 g Phosphor. Am nächsten Tage Morgens halb 9 Uhr wird das Thier in heftigen Krämpfen vorgefunden, es wirft sich herum, fällt vom Tische herunter und lässt Harn und Koth; hernach verfällt es in ein tiefes Coma, nur zeitweise durch Stöhnen und kurz andauernde Krämpfe unterbrochen. In diesem Zustande verblieb es bis um 4 Uhr Nachmittags, wo der Tod erfolgte. Wir haben diesem Thiere Morgens 9 Uhr, wo es bereits in comatösem Zustande war, 0.25 g Resorcin injicirt. Eine Stunde vor dem Tode wurden mittelst Katheter 18 ccm Harn erhalten und, obgleich die Menge nur gering war, haben wir nach dem Enteiweissen darin die Schwefelsäuren bestimmt.

Gef. 0.0296 g $SO_4H_2$ der Salze und 0.00727 g $SO_4H_2$ gepaart. Das Verhältniss der Säuren = 4 : 1.

Es ist kaum zu bezweifeln, dass die synthetischen Processe unabhängig von der Oxydation verlaufen. Da, wo die Intensität der Oxydationen geschwächt oder gänzlich erloschen ist, finden noch immer Synthesen anscheinend in gleichem Grade wie im normalen Zustande statt. Möglich, dass die Oxydation und Synthese sogar in morphologisch verschiedenen Elementen geschehen.

Ausser den Versuchen an Thieren haben wir versucht, den Einfluss einiger Krankheiten auf die Oxydationsvorgänge im menschlichen Organismus zu ermitteln; wir erwarteten, dass die Intensität der physiologischen Oxydation am markantesten bei solchen Krankheiten zum Vorschein kommen wird, in welchen entweder die Menge des Oxyhämoglobins resp. des Sauerstoffs wesentlich vermindert, wie dies ausser bei Leukämie noch bei Chlorose und Anämie der Fall ist, oder wo das oxydirende labile Eiweissmolekül der Gewebe tiefe Veränderung erleidet. Eine in die letzte Kategorie fallende Krankheit ist die Pseudohypertrophia musculorum, bei welcher Krankheit an Stelle der Muskeln Fett auftritt.

Wie die Versuche an Hunden und Kaninchen ergaben, ist die Menge des zu Phenol oxydirten Benzols je nach der Individualität verschieden; das gleiche gilt auch für den Menschen, so dass auch hier ein exacter Vergleich nur dann möglich wäre, wenn bei dem gleichen Individuum im kranken und gesunden Zustande die Menge des Phenols nach gleicher Benzolgabe bestimmt würde. Diese Forderung ist namentlich bei acuten, mit Genesung endigenden Krankheiten leicht erfüllbar und es ist mit Sicherheit zu erwarten, dass von den Aerzten, die in der Lage sind, derartige Bestimmungen auszuführen, manche interessante Thatsache mittelst dieser Methode erkannt wird. Bei chronischen Krankheiten, wo die Bestimmung des in gesundem Zustande oxydirten Benzols nicht gut möglich ist, dürften wiederholte Bestimmungen an mit gleicher Krankheit behafteten verschiedenen Individuen und Vergleiche mit gesunden Aufklärung über den Grad der Veränderung der Oxydationsfähigkeit verschaffen. Wir waren leider nicht in der Lage, eine grössere Anzahl derartiger Bestimmungen, namentlich aber auch an Kranken nach der Genesung auszuführen und können unsere Beobachtungen deshalb nicht als maassgebend angesehen werden. Wir wollen zunächst die bei der Chlorose und Anämie erhaltenen Zahlen mittheilen.

## 1. Chlorose.

Aus der Krankengeschichte, wie sie uns Herr Bourquin, Assistent der hiesigen medicinischen Klinik, mittheilte, entnehmen wir Folgendes:

P. M., Dienstmagd, 21 Jahre alt, normal gebaut und in mässigem Ernährungszustande. Auffallende Blässe aller Schleimhäute und der Haut des ganzen Körpers. Gesichtsfarbe blass, transparent. Temperatur leicht erhöht 37 bis 38°. Subjectives Befinden und Appetit leidlich. Patientin klagt über leichte Schmerzen in den vorderen Thoraxpartien, obwohl keine abnormen Befunde damit übereinstimmen. Ophthalmoskopischer Befund negativ. Blutuntersuchung ergab: auf 2496000 rothe, 8000 weisse Blutkörperchen, oder das Verhältniss der rothen zu den weissen wie 312 : 1.

Der Harn der Patientin enthielt normaler Weise minimale Mengen von Phenol; sie erhielt 2.0 g Benzol in zwei Dosen zu 1.0 g. Kein Erbrechen. Die hierauf ausgeschiedene Phenolmenge war folgende:

| Tag | Harnmenge in 24 Std. | Darin Phenol |
|---|---|---|
| 1 | 2450 ccm | 0.4949 g |
| 2 | 1870 „ | 0.0590 „ |
| 3 | 1630 „ | 0.0233 „ |
| 4 | 1720 „ | nicht wägbar |
| | | Summa = 0.5772 g |

## 2. Perniciöse Anämie.

M. E., Schulknabe, 15 Jahre alt. Seine Krankheit datirte von Ende Juni 1882 und begann mit Herzklopfen und Schwäche. Er wurde am 12. October ins Spital aufgenommen. Patient ist sehr schwach, erbricht oft und bekommt Stühle erst auf Klystiere. Wiederholte Blutungen aus der Nase. Am 25. October beträgt die Zahl der rothen Blutkörperchen in 1 ccm 1134000 und das Verhältniss von rothen zu weissen = 80:1. Am 27. October ist die Zahl der rothen = 1520000; am 29. d. Mts. = 2272000, am 30. October = 2300000. Patient erholt sich sichtlich und nimmt an Gewicht zu. Die 24stündige Harnmenge vom 30. October wurde mit verdünnter Schwefelsäure destillirt und in der Gesammtmenge = 1350 ccm Harn 0.0388 g Phenol gefunden. Am folgenden Tage erhält der Patient 2.0 g Benzol. Die hierauf entleerten Phenolmengen waren folgende:

| Tag | Harnmenge in 24 Std. | Darin Phenol |
|---|---|---|
| 1 | 1480 ccm | 0.888 g |
| 2 | 1340 „ | 0.0241 „ |
| 3 | 1450 „ | unwägbar |
| | | Summa = 0.9121 g |

wovon jedoch die Menge des unabhängig vom Benzol ausgeschiedenen Phenols abzuziehen wäre.

## 3. Pneumonie.

Der Patient, mässig genährt und gut gebaut, erkrankt am 17. November 1882 an linksseitiger Pneumonie; am 24. November, wo die Temperatur des Kranken 38.4° war, erhielt er 2.0 Benzol. Kein Erbrechen. Der vorher geprüfte Harn enthielt kein Phenol. Die erhaltenen Zahlen sind folgende:

| Tag | Harnmenge | Darin Phenol |
|---|---|---|
| 1 und 2 | 1610 ccm | 0.6021 g |
| 3 | 840 „ | 0.0638 „ |
| | | Summa = 0.6659 g |

Herr Brzeziński hat ferner in einem Falle von sehr vorgeschrittener falscher Muskelhypertrophie die nach Eingabe von 2 g Benzol gebildete Menge Phenol bestimmt, und obgleich diese Bestimmung, da der Kranke an incontinentia urinae litt und ein Theil des Harnes verloren ging, keine genaue ist, so ist sie doch interessant genug, um hier mitgetheilt zu werden.

H. E., ein 11 Jahre alter Knabe, wurde am 6. November 1879 ins Spital aufgenommen. Der damalige status praesens war folgender: sehr stupid aussehender Knabe, liegt theilnahmlos mit aufgespreizten Beinen und flectirten Unterschenkeln. Füsse in hochgradiger Equinovarus-Stellung. Er kann sich nicht bewegen. Die active Bewegung der Beine sehr beschränkt. Obere Extremitäten in articul. cubit. passiv beweglich, ebenso die unteren Extremitäten im Kniegelenk mit Schmerzen. Oberschenkel umfänglich. Wadenmusculatur nicht sehr vergrössert. Deltoidei sehr voluminös, hingegen bicipites atrophisch. Lendengegend fleischig. Beginnender decubitus. Spuren von abgelaufener Rhachitis. Urin und Stuhl normal. Kein Appetit. Die Veränderungen der inneren Organe unwesentlich und in keinem Zusammenhange mit dem Hauptleiden. Zu der Zeit, wo der Patient das Benzol bekam, war sein Zustand bedeutend verschlimmert. Starke Abmagerung, Albuminurie, alle Muskel stark atrophisch. Fettpolster noch ziemlich vorhanden. Keine activen Bewegungen mehr ausser mit den Fingern, incontinentia alvi et urinae. Der Patient starb einige Monate später. Der Harn des Knaben enthielt minimale Mengen Phenol. Am Tage vor dem Versuche 0.0017 g in 100 ccm. Die nach Eingabe von 2.0 g Benzol, die er ohne Widerwillen und Erbrechen aufnahm, ausgeschiedene Phenolmenge war folgende:

| Tag | Harnmenge in 24 Std. | Darin Phenol |
|---|---|---|
| 1 . . . . . . . | 1190 ccm | 0.2153 g |
| 2 . . . . . . . | 250[1] „ | 0.0385 „ |
| 3 . . . . . . . | 800 „ | 0.1712 „ |
| 4 . . . . . . . | 750 „ | 0.0085 „ |
| | Summa = | 0.4335 g |

Wie schon erwähnt, war es nicht möglich, bei den vorigen Patienten die Menge des zu Phenol oxydirten Benzols in gesundem Zustande zu bestimmen. Um die Lücke theilweise auszufüllen und so mehr Vergleichszahlen zu erhalten, hat Herr Brzeziński sowohl an sich selbst zu wiederholten Malen, als wie an einem gesunden Collegen die nach Einnahme von 2.0 g Benzol ausgeschiedene Phenolmenge bestimmt. Oben sind die Versuche, welche Herr Brzeziński an sich selbst angestellt hat, mitgetheilt worden. Eine dritte Bestimmung bei einem 23 Jahre alten Individuum von mittlerer Grösse und schwächlichem Körperbau ergab nach Einnahme von 2.0 g Benzol 0.616 g Phenol im Harne.

Die sowohl bei Gesunden wie bei Kranken erhaltenen Zahlen veranschaulicht folgende tabellarische Zusammenstellung (S. 704).

Die bei dem Pneumoniker und dem an perniciöser Anämie erkrankten, jedoch bereits in Reconvalescenz befindlichen Patienten für oxydirtes Benzol erhaltenen Zahlen liegen innerhalb normaler individueller Schwankungen. Das Gleiche gilt auch mit grosser Wahrscheinlichkeit von der Chlorose. Die stärkste Verminderung sehen wir bei der leukämischen Patientin. Gegenüber der Durchschnittszahl bei Gesunden = 0.8063 g ist die Quantität des disponiblen atomistischen Sauerstoffs in den Geweben bei Leukämie nahezu fünfmal geringer. Auch die bei pseudohyper-

[1]) Am zweiten Tage ist der grösste Theil des Harnes verloren gegangen.

| Untersuchte Fälle | Phenol nach 2 g Benzol g |
|---|---|
| 1. Gesund | 0.616 |
| 2a. Gesund | 0.8881 |
| 2b. Derselbe 5 Monate später | 0.9150 |
| 3. Pneumonie | 0.6659 |
| 4. Perniciöse Anämie | 0.8331 |
| 5. Chlorose | 0.5772 |
| 6. Leukämie[1]) | 0.125 |
| 7. Pseudohypertrophie der Muskeln | 0.4335 |

trophia musculorum erhaltenen Zahlen sprechen für eine merkliche Verminderung des atomistischen Sauerstoffs in den Geweben. Allerdings war der Patient erst ein 13jähriger und in der Entwickelung zurückgebliebener Knabe und ist am 2. Versuchstage wahrscheinlich der grösste Theil des Harns verloren gegangen, dagegen ist hervorzuheben, dass der 15jährige an perniciöser Anämie Erkrankte die gleiche Menge Benzol wie ein gesunder Erwachsener zu Phenol oxydirte. Auch wird, wie die mitgetheilten Zahlen zeigen, bei weitem der grösste Theil des Phenols in den ersten 24 Stunden ausgeschieden.

Wie unsere Versuche zeigen, ist die grösste Verminderung des atomistischen Sauerstoffs in den Geweben bei Phosphorvergiftung und bei der Leukämie, und doch wie verschieden ist die Veränderung der Organe und des Stoffwechsels bei beiden Erkrankungen. Wir haben früher gezeigt, dass die Angaben über den Uebergang von Milchsäure in den Harn bei Leukämie keineswegs glaubwürdig sind und die einzige constante Erscheinung bei Leukämie ist die vermehrte Ausscheidung der Harnsäure und der Xanthinkörper. Bei der nahen chemischen Verwandtschaft des Xanthins mit der Harnsäure lag der Gedanke nahe, dass normaler Weise Xanthin zu Harnsäure oxydirt werde und weil bei der Leukämie die Oxydation herabgesetzt ist, bleibe diese Oxydation aus. Wir haben daher an unserem Versuchshunde einen hierauf bezüglichen Versuch angestellt, aus welchem hervorgeht, dass Xanthin weder unverändert den Organismus passirt noch als Harnsäure ausgeschieden, sondern aller Wahrscheinlichkeit nach normaler Weise zu Kohlensäure und Harnstoff umgewandelt wird. Da bei der Kostbarkeit des Präparates wir nur geringe Mengen Xanthin verfüttern konnten, so wurde der 10 kg schwere Hund auf ungenügende und stickstoffarme Kost gesetzt. Er erhielt täglich nur 100 g Brot, 20 ccm Milch und 200 ccm Wasser. Nach 10tägigem derartigen Futter sank die Harnstoffausscheidung auf 4 bis 5 g und sowohl Kynurensäure als Harnsäure und das Xanthin sind aus dem Harn gänzlich verschwunden, so dass nach Ausfällung der Phosphate ammoniakalische Silberlösung in dem Harn keine Trübung verursachte. Der Harnstoff wurde nach der von Pflüger verbesserten Liebig'schen Methode bestimmt. Die erhaltenen Zahlen sind folgende:

[1]) Siehe Journal f. prakt. Chemie, N. F., **26**, 47. — Dieser Band S. 674.

| Versuchs-tag | 24 stündige Harnmenge ccm | 24 stündige Harnstoff-menge g | Kochsalz in 24 Stunden g | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 290 | 5.14 | 1.85 | |
| 2 | 250 | 5.00 | 2.05 | |
| 3 | 256 | 4.20 | 1.45 | |
| 4 | 268 | 4.44 | 1.92 | |
| 5 | 292 | 4.17 | 2.31 | An diesem Tage erhielt der Hund 1 g salzsaures Xanthin. |
| 6 | 214 | 3.63 | 1.79 | |
| 7 | 254 | 4.03 | 2.11 | |

Die verfütterte Xanthinmenge würde im günstigsten Falle eine Vermehrung von Harnstoff im Harne um etwa 0.6 g bewirken. Eine solche ist in unserem Versuche nicht zu bemerken, da der Hund in dem der Xanthinfütterung entsprechenden Harne nur 4.17 g Harnstoff hatte. Der Harn enthielt aber an diesem Tage und auch am folgenden keine Harnsäure und kein Xanthin, da nach Ausfällung der Phosphorsäure ammoniakalisches Silber nur eine unwägbare Trübung im Harne erzeugte. Auf Grund dieses Versuches ist es daher wohl möglich, dass Xanthin, welches nach den letzten Untersuchungen mehrerer Forscher bei der Zersetzung des Eiweisses durch Pankreas entsteht, im gesunden Organismus fast gänzlich zersetzt wird und nur bei Leukämie, wo die Oxydation geschwächt ist, vermehrt im Harne auftritt. — Die Oxydation im Thierkörper ist in erster Linie von zwei Bedingungen abhängig; nämlich 1. von der Menge des zu den Geweben zugeführten molekularen Sauerstoffs, und 2. von der Beschaffenheit der Gewebszellen, innerhalb welcher die Oxydation stattfindet. Aller Wahrscheinlichkeit nach muss, damit die Oxydation mit hinreichender Intensität geschieht, ein gewisser Ueberschuss an $O_2$ den Zellen zugeführt werden und noch lange bevor das venöse Blut wie bei Erstickung ganz sauerstofffrei ist, werden die Oxydationen nicht so vollständig sein wie normaler Weise[1]. Wir haben schon in unserer letzten Arbeit über die physiologische Verbrennung bemerkt, dass die Analogie zwischen den Aldehyden und dem lebendigen protoplasmatischen Eiweiss in den Thierzellen nur eine theilweise ist. Ein wesentliches und charakteristisches Merkmal des lebendigen thierischen Protoplasmas ist, dass es ohne Sauerstoff nicht existiren kann, während Aldehyde ihre Natur und Eigenschaften nicht im Mindesten bei Ausschluss von Sauerstoff verändern. In völlig sauerstofffreien Medien können die spontanen Protoplasmabewegungen nur kurze Zeit fortdauern und bei längerem Aufenthalt in sauerstofffreien Medien stirbt das Protoplasma ab unter Trübung, Vacuolenbildung und Zerfall.

[1] In Fällen, wo die Oxydationsintensität vermindert ist, wie z. B. bei der Leukämie, wäre es daher sehr wünschenswerth, den Gehalt des venösen Blutes an Oxyhämoglobin zu kennen. Es ist zu erwarten, dass durch die Ausbildung und Vereinfachung der spectrophotometrischen Methode von Hüfner diese Forderung ausführbar wird.

Fränkel[1]) machte die Beobachtung, dass Hunde, bei welchen durch künstliche Verengerung der Respirationswege oder durch Vergiftung der rothen Blutkörperchen mit Kohlenoxyd der Sauerstoffzutritt zu den Geweben behindert ist, bedeutend mehr Harnstoff ausscheiden als normal. Fränkel erklärt in richtiger Weise dieses Resultat so, dass es sich dabei um ein partielles, durch den Sauerstoffmangel bedingtes Absterben der Organe handelt, wobei die der Nekrobiose verfallenen zelligen Elemente als todtes Eiweiss, gerade wie das mit der Nahrung eingeführte, baldigst zersetzt und gespalten werden. Nur von diesem Gesichtspunkte aus ist es verständlich, dass bei der acuten Phosphorvergiftung, wo kein atomistischer Sauerstoff in den Geweben mehr gebildet wird, nach den übereinstimmenden Angaben verschiedener Autoren[2]) die Stickstoff- resp. Harnstoffausscheidung erheblich vermehrt ist.

Die von uns ausgeführten Untersuchungen zeigen, dass mittelst der so einfach ausführbaren Methode die Intensität der Oxydation im Thierkörper mit hinreichender Genauigkeit bestimmt und verglichen werden kann und es ist mit Sicherheit zu erwarten, dass durch ihre Anwendung bei physiologischen und namentlich pathologischen Untersuchungen unsere Erkenntniss der chemischen Vorgänge in den Geweben wesentliche Fortschritte machen wird. Allerdings sind wir nicht der Meinung, dass sie die bisherigen Methoden, so namentlich die Untersuchungen des respiratorischen Gaswechsels, ersetzen soll. Die Erscheinungen der physiologischen Oxydation und damit des Lebens sind mannigfaltig und complex. Wir wiederholen, unsere Methode ist nur eine Ergänzung der bisherigen, indem sie von anderer Seite aus den Einblick in die Vorgänge des Zelllebens ermöglicht. Ein tieferes Eindringen und Verständniss der physiologischen Oxydation ist stets da zu erwarten, wo nicht allein die Mengen des atomistischen Sauerstoffs, sondern auch die des aufgenommenen molekularen Sauerstoffs und der gebildeten Kohlensäure und andererseits der stickstoffhaltigen Ausscheidungsproducte bestimmt werden.

---

Beiträge zur Kenntniss der Oxydationen im Organismus bei Krankheiten und Vergiftungen von E. Brzeziński. In.-Diss. Bern. Diese Dissertation stellt nur einen Theil des thatsächlichen Materials vor, welcher in obiger Arbeit von M. Nencki und N. Sieber angegeben ist. H.

---

[1]) Virchow's Archiv **67**, 273.

[2]) Vgl. Hans Meyer, Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie **14**, 331.

# Ueber Biuretdicyanamid

von

**F. Rasiński.**

Journ. prakt. Chem., N. F., **27**, 157. Nach dem Referate von Dr. Schotten abgedruckt. Ber. **16**, 791.

Wird 1 Thl. Acetylharnstoff mit 2½ Thln. kohlensaurem Guanidin auf 140 bis 150° erhitzt, so bildet sich unter Ammoniakentwickelung Biuretdicyanamid, $C_4N_7H_9O_2$. Es fällt beim Erkalten einer concentrirten, heissen, wässerigen Lösung amorph aus. Es löst sich in Säuren und fixen Alkalien, nicht in Ammoniak. Das salzsaure und schwefelsaure Salz sind unbeständig, das salpetersaure lässt sich umkrystallisiren. Silbernitrat und Kupfersulfat fällen aus der Lösung keine Niederschläge. Mit Kupfersulfat und Natronlauge giebt die Base nicht die Biuretreaction.

# Eine neue Darstellungsweise des Glycocolls

von

**M. Nencki.**

Ber. **16**, 2827. Eingegangen am 26. Novbr.; mitgetheilt von Herrn A. Pinner.

Glycocoll wird gewöhnlich durch Spaltung der Hippursäure bereitet. Auch die Fäulniss des Leims, wobei nach meinen früheren Untersuchungen [1]) durchschnittlich 10 Proc. von dem Gewichte des angewandten Leims erhalten werden, eignet sich sehr wohl für die Darstellung dieses Körpers. Jedem dagegen, der durch Erhitzen von Chloressigsäure mit Ammoniak in zugeschmolzenen Röhren Glycocoll darstellte, ist es wohl bekannt, wie gering die Ausbeute an dieser Substanz ist. Beim Kochen von Chloressigsäure mit wässerigem Ammoniak in offenen Gefässen erhielt Heinz [2]) neben Glycol-, Diglycol- und Triglycolsäure nur Spuren von Glycocoll. Von der Voraussetzung ausgehend, dass, wenn Chloressigsäure statt mit gelöstem Ammoniak mit trockenem, kohlensaurem Ammon erhitzt werde, die Umsetzung zu Amidoessigsäure und Salmiak eine vollständigere sein muss, habe ich Chloressigsäure mit dem dreifachen Gewichte trockenen, gepulverten, kohlensauren Ammons in einem offenen Kölbchen im Schwefelsäurebade erhitzt. Die Einwirkung beginnt bei 60 bis 70°, die Masse schmilzt und die Temperatur steigt allmählich bis auf 130°, wo die Masse fest wird. Die Schmelze wurde nun in Wasser gelöst, mit Bleioxyd zur Entfernung

[1]) Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas. Bern 1876. — Dieser Band S. 181.

[2]) Ann. Chem. Pharm. **122**, 283.

des Ammoniaks längere Zeit gekocht, aus dem Filtrate das Blei durch Schwefelwasserstoff entfernt und die bleifreie Lösung auf dem Wasserbade concentrirt. Durch Kochen dieser Lösung mit kohlensaurem Kupfer wurde dann das für Glycocoll charakteristische Kupfersalz dargestellt, das, einmal aus heissem Wasser umkrystallisirt, 7.96 Proc. Krystallwasser und nach dem Trocknen bei 100° 30.05 Proc. Kupfer enthielt. Der Formel $(C_2H_4NO_2)_2Cu + H_2O$ entspricht der Krystallwassergehalt 7.84 Proc. und das Salz $(C_2H_4NO_2)_2Cu$ enthält 30.03 Proc. Kupfer.

Bei wiederholten Darstellungen wurden 20 Proc. Glycocoll von der theoretisch berechneten Menge erhalten. Immerhin hat diese Bereitungsweise den Vortheil, dass man in offenen Gefässen operirt und grössere Mengen Chloressigsäure auf einmal verarbeiten kann. Voraussichtlich werden auch andere halogensubstituirte Fettsäuren nach diesem Verfahren sich leicht und mit vortheilhafter Ausbeute in die zugehörigen Amidosäuren überführen lassen. Dies ist auch hauptsächlich der Grund, der mich zu der vorliegenden Notiz veranlasst.

---

## Ueber die Einwirkung der Dibrombarbitursäure auf Sulfoharnstoff und sulfocyansaure Salze

von

**W. Trzciński.**

Ber. **16**, 1057. Eingegangen am 23. April; verlesen in der Sitzung von Herrn A. Pinner.

In einer etwa vor einem Jahre im Journ. f. prakt. Chemie [1]) veröffentlichten Abhandlung haben Nencki und Sieber gezeigt, dass die Dibrombrenztraubensäure sowie die Dibrombernsteinsäure in wässeriger Lösung bei Gegenwart von Sulfoharnstoff leicht Brom abgeben, wobei Sulfoharnstoff unter Schwefelabscheidung zersetzt wird und Bromwasserstoff sich bildet. Andererseits ist es bekannt, dass bei der Einwirkung der Metallrhodanüre auf Haloidverbindungen Substitution des Haloidatoms durch die SCN-Gruppe stattfindet. So z. B. entsteht nach Lermontow [2]) aus Methylenjodid und alkoholischem Rhodankalium das Methylenrhodanid.

Das Verhalten der Dibrombarbitursäure gegen Sulfoharnstoff und Sulfocyanate ist ein anderes, in beiden Fällen findet die Verdrängung des Broms und die Substitution desselben durch ein Molekül Sulfoharnstoffs resp. Metallrhodanürs statt.

Dibrombarbitursäure wurde in grösseren Quantitäten aus Harnsäure nach der Vorschrift von Baeyer dargestellt. Eine Brombestimmung in dem zu den folgenden Reactionen verwendeten Präparate ergab 55.79 Proc. Brom, die Formel $C_4O_3N_2H_2Br_2$ verlangt 55.94 Proc. Brom.

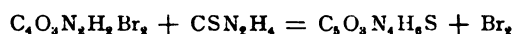
---

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **25**, 72. — Dieser Band S. 613.

[2]) Ber. **7**, 1282.

Vermischt man wässerige und noch besser alkoholische Lösungen von Dibrombarbitursäure und Sulfoharnstoff, so entsteht augenblicklich ein weisser körniger Niederschlag, der, wie die genaue Untersuchung ergab, mit der von Nencki[1]) durch Einwirkung von schwefliger Säure auf Alloxan und Sulfoharnstoff erhaltenen Sulfopseudoharnsäure identisch ist. Der so erhaltene Körper war in Wasser, Alkohol und Ammoniak unlöslich. Aus heisser concentrirter Bromwasserstoffsäure krystallisirte er in feinen, concentrisch gruppirten Nadeln. In fixen Alkalien löste er sich leicht auf und wurde durch Salmiak aus der Lösung gefällt. Beim anhaltenden Kochen der alkalischen Lösung wurde der Körper unter Bildung von Schwefelalkalien, beim gelinden Erwärmen dagegen unter Bildung von sulfodialursauren Salzen zersetzt. Eine Stickstoffbestimmung in dem durch Fällung mit Salzsäure aus alkalischer Lösung erhaltenen und bei 100° getrockneten Präparate ergab 27.31 Proc. Stickstoff, die Formel $C_5H_6N_4SO_3$ verlangt 27.72 Proc. Stickstoff.

Operirt man in alkoholischer Lösung, so sind 3 bis 3.5 g Sulfoharnstoff zur vollständigen Fällung von 10 g Dibrombarbitursäure als Sulfopseudoharnsäure nöthig. Diese Zahlen, sowie die Ausbeute, die nahezu theoretisch ist, zeigen, dass die Bildung der Sulfopseudoharnsäure nach der Gleichung:

$$C_4O_3N_2H_2Br_2 + CSN_2H_4 = C_5O_3N_4H_6S + Br_2$$

erfolgt und jedenfalls ist dies die bequemste Methode, um grössere Quantitäten der Sulfopseudoharnsäure darzustellen.

Das Filtrat von der auf diese Weise gebildeten Sulfopseudoharnsäure bläut Jodkaliumstärkekleister und giebt beim Abdampfen ausser Bromwasserstoff einen ganz geringen festen Rückstand, vorwiegend aus einer in Nadeln krystallisirenden Verbindung bestehend, die mit Wasser gekocht unter Abscheidung von Schwefel sich zersetzt.

Sulfopseudoharnsäure wurde auch von Mulder[2]) durch Einwirkung von Monobrombarbitursäure auf Sulfoharnstoff erhalten. Wie man sieht, ist die umständliche Ueberführung der Dibrombarbitursäure in die Monobromsäure zur Darstellung der Sulfopseudoharnsäure nicht erforderlich.

Werden alkoholische Lösungen von Rhodanammonium oder auch Rhodankalium mit einer ebenfalls alkoholischen Lösung der Dibrombarbitursäure vermischt, so entstehen unter merklicher Temperaturerhöhung weisse Niederschläge, welche die respectiven Salze einer neuen Verbindung sind, die ich mit dem Namen Rhodanbarbitursäure bezeichne.

Zur Darstellung dieser Salze ist folgendes Verfahren empfehlenswerth: kalte alkoholische Lösung der Dibrombarbitursäure wird so lange mit der alkoholischen Lösung des Rhodansalzes versetzt, bis in einer herausgenommenen Probe Eisenchlorid eine rothe Färbung erzeugt, als Zeichen, dass überschüssiges Sulfocyanat vorhanden. Der abgeschiedene Niederschlag wird mit Alkohol gut ausgewaschen, an der Luft getrocknet und aus heissem Wasser, worin er leicht löslich ist, umkrystallisirt. Sowohl das Ammonium- wie das Kaliumsalz sind in Alkohol fast ganz unlöslich, in

[1]) Ber. 4, 722. — Dieser Band S. 33.

[2]) Ebenda 12, 2309.

heissem Wasser leicht löslich und krystallisiren aus den wässerigen Lösungen in farblosen rhombischen Tafeln, die kein Krystallwasser enthalten.

Die Analysen des bei 100° getrockneten Kaliumsalzes ergaben mit der Formel $C_5O_3N_3H_2SK$ übereinstimmende Zahlen.

| | Gefunden | Die obige Formel verlangt |
|---|---|---|
| C | 27.16 | 26.89 Proc. |
| H | 1.35 | 0.89 „ |
| N | 19.11 | 18.82 „ |
| S | 13.98 | 14.34 „ |
| K | 17.14 | 17.48 „ |

Das Ammoniumsalz ist nach der Formel $C_5O_3N_3H_2S(NH_4)$ zusammengesetzt. Die Analysen des lufttrockenen Präparates ergaben:

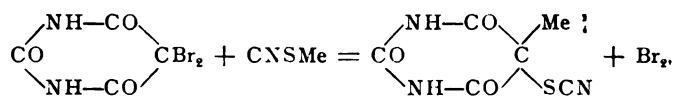
| | Gefunden | Für die obige Formel berechnet |
|---|---|---|
| C | 29.90 | 29.70 Proc. |
| H | 3.31 | 2.97 „ |
| S | 16.08 | 15.84 „ |

Wie besonders angestellte Versuche ergaben, wirkt auf 1 Molekül der Dibromsäure 1 Molekül des Rhodanates. In einem Versuche waren zur Fällung von 20 g Dibrombarbitursäure 6 g Rhodanammonium statt der berechneten Menge 5.3 erforderlich.

In geringer Menge entsteht hier neben viel Bromwasserstoff noch Bromammonium resp. Bromkalium und eine gelbe, in Aether und Wasser lösliche, stickstoff- und schwefelhaltige, krystallinische Substanz.

Die Einwirkung der Rhodansäure auf die Dibrombarbitursäure findet auch statt, wenn die Substanzen trocken mit einander verrieben werden; die Masse färbt sich tief gelb, es entweicht Brom und es entsteht das respective Salz der Rhodanbarbitursäure.

Die Reaction zwischen der Dibrombarbitursäure und den sulfocyansauren Salzen besteht danach einfach in der Verdrängung der zwei Bromatome durch das Rhodansalz im Sinne folgender Gleichung:

$$CO\begin{matrix}\diagup NH-CO\diagdown \\ \diagdown NH-CO\diagup\end{matrix}CBr_2 + CNSMe = CO\begin{matrix}\diagup NH-CO\diagdown \\ \diagdown NH-CO\diagup\end{matrix}C\begin{matrix}\diagup Me \\ \diagdown SCN\end{matrix} + Br_2,$$

wo Me = K, $(NH_4)$ ist.

Dass das Kohlenstoffatom der in der Barbitursäure vorhandenen Methengruppe mit Metallen direct in Verbindung zu treten vermag, haben vor Kurzem M. Conrad und M. Guthzeit[1]) unstreitig bewiesen.

Es ist bemerkenswerth, dass bei der Einwirkung von Dibrombarbitursäure auf Sulfocyanate, wobei durch Einwirkung von Brom auf Alkohol viel Bromwasserstoffsäure entsteht, nicht die freie Rhodanbarbitursäure, sondern deren Salze erhalten werden.

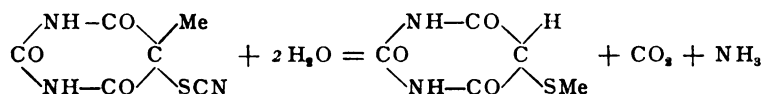
In der wässerigen Lösung des rhodanbarbitursauren Kaliums oder Ammoniums

[1]) Ber. **15**, 2847.

erzeugen Blei- und Silbersalze weisse, in Wasser schwer lösliche Niederschläge, deren wässerige Lösungen sich beim Kochen zersetzen. Das durch Fällung mit Silbernitrat erhaltene Salz ist krystallinisch und nach der Formel $C_6O_3N_3H_2SAg$ zusammengesetzt. Durch Zusatz von Weinsäure zur concentrirten Lösung des rhodanbarbitursauren Kaliums wird kein Weinstein abgeschieden. Beim Kochen der wässerigen Lösungen des rhodanbarbitursauren Kaliums oder Ammoniums mit Schwefelammonium bildet sich Rhodanammonium, was diese Salze als Rhodanäther charakterisirt.

Es ist mir nicht gelungen, die freie Rhodanbarbitursäure abzuscheiden. Vermischt man concentrirte Lösungen ihrer Salze mit überschüssiger Salzsäure, so entsteht ein krystallinischer, in Wasser löslicher Niederschlag, der sich aber nicht umkrystallisiren lässt, indem er, schon gelinde mit Wasser erwärmt, sich zersetzt, wobei Sulfodialursäure, Blausäure, Sulfocyansäure und ein in Alkalien und Säuren unlöslicher Körper entstehen. Auf dieselbe Weise werden rhodanbarbitursaure Salze beim Kochen mit Salzsäure oder verdünnter Schwefelsäure zersetzt.

Viel glatter im Sinne der Gleichung:

$$CO\begin{matrix}\diagup NH-CO\diagdown \\ \diagdown NH-CO\diagup\end{matrix}C\begin{matrix}\diagup Me \\ \diagdown SCN\end{matrix} + 2H_2O = CO\begin{matrix}\diagup NH-CO\diagdown \\ \diagdown NH-CO\diagup\end{matrix}C\begin{matrix}\diagup H \\ \diagdown SMe\end{matrix} + CO_2 + NH_3$$

zerfällt das Kalium- oder Ammoniumsalz der Rhodanbarbitursäure durch gelindes Erwärmen mit verdünnter Kalilauge. Die Flüssigkeit färbt sich tief gelb, es entweicht Ammoniak und durch Einleiten von Kohlensäure in die alkalische Lösung wird das für die Sulfodialursäure charakteristische saure Kaliumsalz als gelber, körniger, krystallinischer, in Wasser sehr schwer, in Alkalien dagegen leicht löslicher Niederschlag abgeschieden.

Nencki[1]) erhielt die Sulfodialursäure aus Sulfopseudoharnsäure durch Erwärmen der letzteren mit Alkalien. Die Elementaranalysen der von ihm aus dem Kaliumsalze abgeschiedenen freien Säure ergaben: 25.8 Proc. C, 3.4 Proc. H, 15.0 Proc. N und 17.1 Proc. S, woraus Nencki die Formel $C_4H_4O_3N_2S + 1\frac{1}{2}H_2O$ berechnet und dazu bemerkt, dass die Zersetzbarkeit der freien Säure beim Trocknen eine genaue Bestimmung des Krystallwassers nicht zulässt.

Genau die gleiche Wahrnehmung machte ich mit der aus rhodanbarbitursauren Salzen erhaltenen Sulfodialursäure. Die bloss über Schwefelsäure getrocknete Substanz ergab folgende Zahlen:

| | Gefunden' | Berechnet für $C_4H_4O_3N_2S + 1\frac{1}{2}H_2O$ |
|---|---|---|
| C | 25.89 | 25.66 Proc. |
| H | 3.73 | 3.74 " |
| N | 15.03 | 14.97 " |

Aus gleichem Grunde wie Nencki konnte auch ich nicht die Säure krystallwasserfrei erhalten, die Elementaranalysen der bei 100 bis 130° getrockneten Präparate ergaben keine unter einander genau stimmende Zahlen.

[1]) Ber. 4, 723. — Dieser Band S. 34.

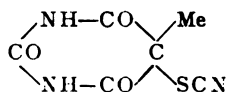
Das für die Sulfodialursäure charakteristische gelbe Kaliumsalz hat die Zusammensetzung $C_4H_3O_5N_2SK + H_2O$.

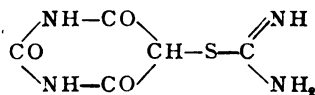
| | Gefunden | Berechnet |
|---|---|---|
| K | 18.11 | 18.09 Proc. |
| N | 13.24 | 12.95 „ |

Das Krystallwasser entweicht selbst bei 140° nicht.

Wird die Sulfodialursäure mit wenig Salpetersäure übergossen, so löst sie sich anfänglich mit rosa Farbe darin auf; beim gelinden Erwärmen findet lebhafte Einwirkung statt und die Sulfodialursäure wird in die Nitrobarbitursäure verwandelt.

Der Umstand, dass aus den rhodanbarbitursauren Salzen und der Sulfopseudoharnsäure dieselbe Sulfodialursäure entsteht, ist für die molekulare Structur der Sulfopseudoharnsäure maassgebend. Da den rhodanbarbitursauren Salzen jedenfalls die Structurformel

```
    /NH—CO\   /Me
CO          C
    \NH—CO/   \SCN
```

zukommt und durch Verseifen daraus Sulfodialursäure entsteht, so muss auch in der Sulfopseudoharnsäure das Schwefelatom sein, welches den Sulfoharnstoffrest mit dem Malonyl der Barbitursäure verbindet, und folglich Sulfopseudoharnsäure nach der Formel

```
    /NH—CO\              //NH
CO          CH—S—C
    \NH—CO/              \NH2
```

zusammengesetzt sein.

Bern, Laboratorium des Prof. Nencki. April 1883.

---

# Ueber die Condensationen der aromatischen Aldehyde mit Phenolen

von

**W. Trzciński.**

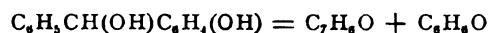
Ber. 16, 2835. Eingegangen am 26. November; mitgetheilt in der Sitzung von Herrn A. Pinner.

Die bekannten Untersuchungen von Baeyer und seinen Schülern über die Condensationen von Aldehyden mit Phenolen und aromatischen Kohlenwasserstoffen[1]) haben ergeben, dass von den Aldehyden der Fettreihe (Methylal, Aethylaldehyd und Chloral) je ein Molekül und von den Aldehyden der aromatischen Reihe (Bittermandelöl und Salicylaldehyd) je zwei Moleküle mit zwei Molekülen der Phenole unter Austritt von einem Molekül Wasser sich verbinden.

---

[1]) Ber. 5, 28, 280, 1094; 6, 220; 7, 1181 ff.

Den Condensationsmodus der aromatischen Aldehyde hat Baeyer in der Weise aufgefasst, dass z. B. bei der Einwirkung von Bittermandelöl auf Phenol zunächst die Verbindung:

$$C_6H_5CH(OH)C_6H_4(OH) = C_7H_6O + C_6H_6O$$

entsteht und dass erst in einer zweiten Periode der Reaction zwei Moleküle dieser Verbindung Wasser abgeben, um die Substanz: 2 Aldehyd + 2 Phenol — 1 Wasser zu bilden.

In einer späteren Untersuchung hat Liebermann [1]) die durch Einwirkung von salicyliger Säure und Paraoxybenzaldehyd auf Phenol entstehenden Substanzen analysirt, ohne jedoch zu einer präcisen Vorstellung über die Art der hier stattfindenden Condensationen zu gelangen. Der von ihm aus Salicylaldehyd und Phenol erhaltene Farbstoff hatte eine durchaus andere procentische Zusammensetzung, als dies die Formeln: $2\,C_7H_6O_2 + 2\,C_6H_6O - H_2O = C_{26}H_{22}O_5$ oder auch $C_7H_6O_2 + 2\,C_6H_6O - H_2O = C_{19}H_{16}O_3$ verlangen und von dem Farbstoffe, den er aus Paraoxybenzaldehyd und Phenol erhielt, vermuthet er, dass er nach der Gleichung: $2\,C_7H_6O_2 + 2\,C_6H_6O + O = C_{26}H_{22}O_6 + H_2O$ entsteht und ihm die Constitution $(C_6H_4OH)_2C(OH)C(OH)(C_6H_4.OH)_2$ zukommen möchte, wobei die Schwefelsäure die Oxydation des zuerst entstandenen Dioxybenzhydrols $CH(OH)(C_6H_4.OH)_2$ zur pinakonartigen Verbindung vermitteln würde. Allerdings stimmen die von Liebermann erhaltenen Zahlen — speciell was den Wasserstoff betrifft — nur wenig mit dieser Formel überein (gefunden Kohlenstoff 73.01 Proc. und 72.60 Proc. und Wasserstoff 6.14 Proc. und 5.80 Proc., berechnet 72.55 Proc. Kohlenstoff und 5.11 Proc. Wasserstoff). Aus der Arbeit von Liebermann geht jedenfalls so viel hervor, dass die Condensation des Salicylaldehyds mit Phenol nicht nach einem von den von Baeyer aufgestellten Schemata vor sich geht.

Ich habe die Untersuchung über den Condensationsmodus von aromatischen Aldehyden mit Phenolen von Neuem aufgenommen und, wenn auch diese Untersuchung noch nicht abgeschlossen ist, so sind doch die bis jetzt erzielten Resultate, die ich im Folgenden beschreiben will, wohl geeignet, unsere Kenntnisse über die bei diesen Condensationen stattfindenden Vorgänge zu erweitern.

Wird Paraoxybenzaldehyd, statt mit Phenol, mit $\beta$-Naphtol und concentrirter Schwefelsäure auf dem Wasserbade erwärmt, so entsteht ein orangegelber, krystallinischer, sehr beständiger Körper, der, wie die spätere Untersuchung ergab, die Trisulfonsäure eines Condensationsproductes von der Zusammensetzung $C_{34}H_{20}O_3$ ist. Da dieser Körper sowohl durch seine charakteristischen Eigenschaften, seine Beständigkeit, sowie die Beständigkeit seiner zum Theil schön krystallisirenden Salze sich auszeichnete, so konnte man erwarten, dass dessen genauere Untersuchung Anhaltspunkte zur Aufklärung der Art der Condensationen zwischen aromatischen Aldehyden und Phenolen liefern wird.

Aus Paraoxybenzaldehyd und $\beta$-Naphtol wird diese Substanz am vortheilhaftesten auf folgende Weise bereitet: 5 Thle. des Aldehyds werden mit 12 Thln. Naphtols vermischt und mit 50 Thln. concentrirter Schwefelsäure übergossen; es

[1]) Ber. 9, 880 (Liebermann und Schwarzer); 11, 1436.

tritt eine schwache Erwärmung ein, die Flüssigkeit wird dunkelviolett, hernach roth; man erwärmt sie jetzt $2^1/_2$ bis 3 Stunden lang auf dem Wasserbade; während der ganzen Zeit ist eine schwache Entwickelung von schwefliger Säure bemerkbar. Die Farbe der Schmelze wird braun und aus einer herausgenommenen Probe fällt durch Wasserzusatz in gelben, undeutlich krystallinischen Flocken die neue Substanz aus.

Das durch Wasser abgeschiedene und abfiltrirte Rohproduct wird durch Kochen mit Calciumcarbonat in das in heissem Wasser leicht lösliche Calciumsalz verwandelt und nach wiederholtem Umkrystallisiren aus heissem Wasser wird das Salz durch Salzsäure zerlegt. Es entsteht hier ein tiefgelber, in verdünnter Salzsäure schwer löslicher Niederschlag, der eine Verbindung von Salzsäure mit der neuen Substanz ist. Der Körper, den ich Melinointrisulfonsäure (von μήλινος = orangegelb, hochgelb) nennen werde, gleicht darin dem Aurin, Fluorescein und Resacetein, welche ebenfalls mit Salzsäure oder Schwefelsäure wenig beständige Verbindungen geben. Auch hier entweicht die Salzsäure vollständig im Luftbade bei 120 bis 130°.

Die Melinointrisulfonsäure in reinem Zustande ist in absolutem Alkohol unlöslich, ziemlich löslich in Wasser. Sie ist in dünnen Schichten schön rosaroth mit grüner Fluorescenz, in dickeren rein gelb. In concentrirter Schwefel- oder Salpetersäure ist sie leicht löslich mit prächtig grüner Fluorescenz und wird beim Kochen mit letzterer nicht verändert. Aus ihrer wässerigen Lösung wird sie durch Mineralsäuren in gelben Flocken gefällt. In alkalischer Lösung mit Zinkstaub erhitzt, wird die Melinointrisulfonsäure reducirt. Aus dem Filtrate fällt das Reductionsproduct durch Salzsäurezusatz in braunrothen, concentrisch gruppirten Prismen aus, die ich jedoch noch nicht analysirt habe. Sie oxydiren sich leicht an der Luft und sofort beim Erwärmen mit Salpetersäure zur Melinointrisulfonsäure. Trocken bis auf 300° erhitzt, schmilzt die Melinointrisulfonsäure nicht und wird allem Anscheine nach nicht verändert. Sie ist eine starke Säure — in Alkalien löst sie sich unter Wärmeentwickelung farblos auf und wird aus ihren Salzen durch verdünnte Essigsäure nicht gefällt.

Die Analysen der bei 130° getrockneten Substanz ergaben für sie mit der empirischen Formel $C_{34}H_{17}O_8(SO_3H)_3$ übereinstimmende Zahlen:

| | Gefunden | | Berechnet für die obige Formel |
|---|---|---|---|
| C | 57.40 | 57.13 Proc. | 56.98 Proc. |
| H | 2.95 | 3.26 „ | 2.79 „ |
| S[1]) | 13.95 | 13.80 „ | 13.40 „ |

Mit Alkalien und alkalischen Erden giebt die Melinointrisulfonsäure weisse, in Wasser lösliche Salze; nur das Baryumsalz ist in Wasser schwer löslich. Beim Trocknen schon über Schwefelsäure werden sie roth. Die wässerigen Lösungen der Salze in reinem Zustande sind vollkommen farblos. Das Blei- und Silbersalz sind

[1]) Bei den Schwefelbestimmungen in dieser Substanz hat sich die Carius'sche Methode als unbrauchbar erwiesen, indem beim Erhitzen derselben mit concentrirter Salpetersäure in zugeschmolzenen Röhren selbst über 300°, bis kein Druck im Rohre mehr vorhanden war, die Oxydation nicht vollständig erfolgte. Nur durch Schmelzen mit Aetzkali und Salpeter, nach der Liebig'schen Methode, konnte die Substanz vollständig zerstört werden.

weisse Niederschläge. Das letztere ist krystallinisch, in Wasser und Ammoniak löslich. Das Eisenoxydsalz ist ähnlich, wie die freie Säure, ein tief gelber, in Wasser unlöslicher Niederschlag. Die Salze sind nach der allgemeinen Formel: $C_{34}H_{17}O_3(SO_3Me)_3$ zusammengesetzt.

Folgende Salze habe ich analysirt:

Das Kaliumsalz, $C_{34}H_{17}O_3(SO_3K)_3$, krystallisirt in farblosen, in Wasser leicht, in Alkohol schwer löslichen, feinen Nadeln; das Salz enthält Krystallwasser, das es schon gänzlich im Exsiccator verliert; gefunden 14.18 und 14.20 Proc. Kalium, die obige Formel verlangt 14.09 Proc. Kalium.

Das Calciumsalz ist in kaltem Wasser weniger löslich als das vorhergehende, krystallisirt ebenfalls in farblosen, krystallwasserhaltigen Nadeln; im bei 130° getrockneten Salze fand ich 7.45 Proc. Calcium, die Formel $C_{34}H_{17}O_3\left(SO_3\frac{Ca}{2}\right)_3$ verlangt 7.76 Proc. Calcium.

Das Baryumsalz wird aus der Lösung eines der obigen Salze durch Chlorbaryum gefällt; aus concentrirten Lösungen abgeschieden, ist es ein weisser amorpher Niederschlag; aus stark verdünnten Lösungen beim langsamen Ausscheiden krystallisirt es in mikroskopischen Nadeln aus. Das über Schwefelsäure oder bei 130° getrocknete Salz enthielt 22.47 und 22.66 Proc. Baryum; die Formel $C_{34}H_{17}O_3\left(SO_3\frac{Ba}{2}\right)_3$ verlangt 22.27 Proc. Baryum.

Das in Wasser leicht lösliche Ammoniumsalz bildet feine, seidenglänzende, farblose Nadeln.

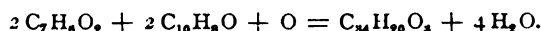
Aus 5 g Paraoxybenzaldehyd und 12 g Naphtol erhielt ich durchschnittlich 2 g der Melinointrisulfonsäure. Sie entsteht auch, wenn statt $\beta$-Naphtol die von Schäffer dargestellte $\beta$-Naphtolsulfonsäure angewendet wird. Aus Salicylaldehyd und $\beta$-Naphtol wird beim Erhitzen mit Schwefelsäure keine Melinointrisulfonsäure gebildet, ebenso wenig wie beim Erhitzen von Paraoxybenzaldehyd mit $\alpha$-Naphtol. Auch $\beta$-Dinaphtol mit Paraoxybenzaldehyd und concentrirter Schwefelsäure erhitzt, giebt diese leicht kenntliche und isolirbare Säure nicht.

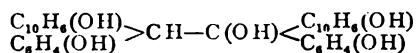
Merkwürdiger Weise entsteht sie, wenn Bittermandelöl mit $\beta$-Naphtol und concentrirter Schwefelsäure auf 200 bis 220° erhitzt wird und es ist dies die billigste Methode, um diesen Körper in grösseren Quantitäten darzustellen.

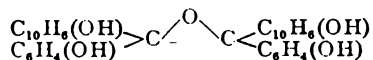
Baeyer giebt an [1]), dass, wenn Benzaldehyd und Naphtol in heisser, alkoholischer Lösung mit Mineralsäuren versetzt werden, sie sich zu einem Körper von der Zusammensetzung: $C_{34}H_{26}O_3$ vereinigen, entsprechend der Gleichung: $2\,C_7H_6O + 2\,C_{10}H_8O = C_{34}H_{26}O_3 + H_2O$. Werden aber äquivalente Mengen der beiden Substanzen mit concentrirter Schwefelsäure auf 200 bis 220° erhitzt, so findet eine weitere Einwirkung statt, es entweicht viel schweflige Säure und beim Eingiessen der Schmelze in Wasser wird die Melinointrisulfonsäure, leicht an ihren charakteristischen Eigenschaften kenntlich, abgeschieden. Vortheilhafter ist es, zuerst das von Baeyer analysirte Condensationsproduct zu bereiten, und dieses durch Erhitzen mit

concentrirter Schwefelsäure in Melinointrisulfonsäure zu verwandeln. Zu dem Zwecke habe ich 1 Gewichtsthl. Bittermandelöl mit 2 Gewichtsthln. $\beta$-Naphtol — ein Ueberschuss von Naphtol ist von Vortheil — in 1 Gewichtsthl. Alkohol in der Wärme gelöst und mit 0.6 Gewichtsthln. concentrirter Schwefelsäure unter stetem Umrühren versetzt. Die Flüssigkeit geräth ins Sieden und nach vollendeter Einwirkung erstarrt sie beim Erkalten zu einem körnigen Krystallbrei, der abfiltrirt, mit Alkohol ausgewaschen und zuerst auf Fliesspapier, sodann bei 100° getrocknet wurde. 1 Gewichtsthl. des so erhaltenen Productes wird hierauf in 4 Gewichtsthln. concentrirter und auf 100° erwärmter Schwefelsäure allmählich unter Umrühren eingetragen. Die Substanz löst sich auf, und beim fortgesetzten Erhitzen — am besten in einer Porcellanschale — findet bei 200° eine lebhafte Entwickelung von schwefliger Säure statt. Man entfernt nun die Flamme, lässt erkalten und fällt die entstandene Melinointrisulfonsäure mit Wasser aus. Die in der oben angegebenen Weise gereinigte Säure wurde in das Baryumsalz verwandelt, und ergab bei der Analyse 22.41 Proc. Baryum.

Die Entstehung der Melinointrisulfonsäure aus Paraoxybenzaldehyd und $\beta$-Naphtol, wenn wir von den eingetretenen Sulfongruppen absehen, erfolgt nach folgender Gleichung:

$$2\,C_7H_6O_2 + 2\,C_{10}H_8O + O = C_{34}H_{20}O_3 + 4\,H_2O.$$

Allem Anscheine nach hat hier in der ersten Phase der Reaction eine Addition des Naphtols zum Aldehyde und Bildung des Oxyphenyloxynaphtylcarbinols, $\begin{matrix} C_6H_4(OH) \\ C_{10}H_6(OH) \end{matrix}\!\!>CH(OH)$, stattgefunden, sodann erfolgte die Condensation zweier dieser Moleküle unter Austritt von Wasser zu dem Producte:

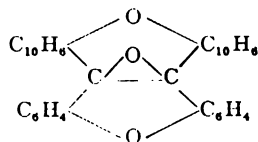
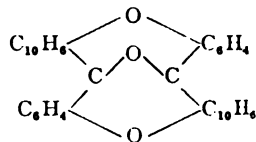
$$\begin{matrix} C_{10}H_6(OH) \\ C_6H_4(OH) \end{matrix}\!\!>CH-C(OH)<\!\!\begin{matrix} C_{10}H_6(OH) \\ C_6H_4(OH) \end{matrix}$$

ähnlich wie bei den von Baeyer beschriebenen Condensationen aromatischer Aldehyde mit Phenolen. Das so entstandene Product wird hierauf durch die Schwefelsäure zu dem Körper:

$$\begin{matrix} C_{10}H_6(OH) \\ C_6H_4(OH) \end{matrix}\!\!>C\diagup^{O}\diagdown C<\!\!\begin{matrix} C_{10}H_6(OH) \\ C_6H_4(OH) \end{matrix}$$

oxydirt.

Der Austritt der zwei übrigen Wassermoleküle könnte in der Art erfolgen, dass je zwei Hydroxyle mit zwei Wasserstoffen des Benzol- resp. Naphtolkerns oder mit den Wasserstoffen zweier anderer Hydroxyle sich zu Wasser vereinigen. In letzterem Falle würde dem Melinoin eine von den folgenden Structurformeln zukommen:

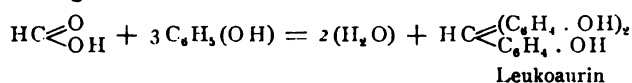
$$C_{10}H_6 \text{–O–} C_{10}H_6;\ C_{10}H_6 >C\diagup^{O}\diagdown C< C_{10}H_6;\ C_6H_4 >C \quad C< C_6H_4;\ C_6H_4\text{–O–}C_6H_4$$

oder

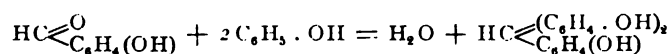
$$C_{10}H_6 \text{–O–} C_6H_4;\ C_{10}H_6 >C\diagup^{O}\diagdown C< C_6H_4;\ C_6H_4 >C \quad C< C_{10}H_6;\ C_6H_4\text{–O–}C_{10}H_6$$

Bei der Bildung der Melinointrisulfonsäure aus Bittermandelöl muss natürlich Oxydation des Benzolkerns des Benzaldehyds stattfinden.

Die Zusammensetzung des Melinoins zeigt, dass die Condensation des Paraoxybenzaldehyds mit $\beta$-Naphtol auf andere Weise geschah, als wie dies bei den von

Baeyer untersuchten Condensationen der Fall ist. Trotz der niederen Temperatur sind hier aus je zwei Molekülen des Aldehyds und $\beta$-Naphtols nicht ein, sondern drei Moleküle Wasser ausgetreten; ausserdem wurden noch zwei Wasserstoffe zum Wasser oxydirt. Dass bei den von mir untersuchten Condensationen von Aldehyden mit Phenolen nicht allein Wasseraustritt, sondern auch Oxydation stattfindet, geht aus der Zusammensetzung des aus Salicylaldehyd und Phenol entstehenden Farbstoffs hervor. Bekanntlich erhielt Nencki [1]) Aurin und seine Homologen durch Erhitzen von Phenolen mit Chlorzink und Ameisensäure. Da die letztere als Oxyformaldehyd aufgefasst werden kann, so lässt sich die Bildung des Aurins bei dieser Reaction durch die Gleichung:

$$HC\begin{matrix}\leqslant O\\ \leqslant OH\end{matrix} + 3\,C_6H_5(OH) = 2(H_2O) + HC\begin{matrix}\leqslant (C_6H_4\,.\,OH)_2\\ \leqslant C_6H_4\,.\,OH\end{matrix}$$

Leukoaurin

formuliren, und es war jedenfalls die Erwartung berechtigt, dass durch die Einwirkung von Salicyl- oder Paraoxybenzaldehyd auf Phenol bei Gegenwart eines wasserentziehenden Mittels eine dem Leukoaurin isomere oder damit identische Substanz entstehen werde:

$$HC\begin{matrix}\leqslant O\\ \leqslant C_6H_4(OH)\end{matrix} + 2\,C_6H_5\,.\,OH = H_2O + HC\begin{matrix}\leqslant (C_6H_4\,.\,OH)_2\\ \leqslant C_6H_4(OH)\end{matrix}$$

Der durch die Einwirkung von Salicylaldehyd auf Phenol entstehende Farbstoff ist schon von Liebermann dargestellt und analysirt worden. Liebermann berechnete jedoch für seinen Körper keine empirische Formel und bemerkt nur, dass bei dieser Reaction, wie die Zahlen der Analyse beweisen, „der Hauptsache nach eine ganz andere Verbindung als Aurin oder Rosolsäure entsteht" [2]).

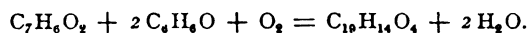
Ich habe den Farbstoff aus Salicylaldehyd und Phenol im Wesentlichen nach gleichem Verfahren wie Liebermann dargestellt. 2.5 Gewichtsthle. des Salicylaldehyds wurden mit 1 Gewichtsthl. Phenol vermengt und hierauf mit 1 Gewichtsthl. Schwefelsäure, die mit Eisessig verdünnt ($^2/_3$ Theile $H_2SO_4$ mit $^1/_3$ Theil $C_2H_4O_2$) war und auf dem Wasserbade erwärmt. Das erhaltene Product wurde pulverisirt, mit Wasser ausgekocht, und nach dem Auswaschen in verdünnter Natronlauge gelöst und mit Salzsäure gefällt. Der Farbstoff giebt mit Salzsäure kein krystallinisches Product und seine alkalischen Lösungen haben einen etwas anderen, mehr violetten Stich als das reine Aurin.

Zur völligen Reinigung wurde der Farbstoff in Natriumbisulfit gelöst, filtrirt und aus dem Filtrate mit Salzsäure abgeschieden. Das ausgewaschene und bei 120° getrocknete Präparat ergab bei der Elementaranalyse die gleichen Zahlen, wie sie schon Liebermann erhielt. Sie stimmen alle gut mit der Formel $C_{19}H_{14}O_4$ überein.

| | Liebermann erhielt | | Ich fand | Die Formel $C_{19}H_{14}O_4$ verlangt |
|---|---|---|---|---|
| C | 74.66 | 74.67 Proc. | 74.19 Proc. | 74.50 Proc. |
| H | 4.93 | 4.90 „ | 5.05 „ | 4.57 „ |

[1]) Journ. prakt. Chem. **25**, 273. — Dieser Band S. 624.
[2]) Ber. **11**, 1437.

Wie man sieht, unterscheidet sich dieser Farbstoff in seiner Zusammensetzung nur durch ein plus von einem Sauerstoffatom von dem Aurin, weshalb ich ihn auch als Oxyaurin bezeichnen will. Seine Entstehung aus Salicylaldehyd und Phenol erfolgt nach der Gleichung:

$$C_7H_6O_2 + 2\,C_6H_6O + O_2 = C_{19}H_{14}O_4 + 2\,H_2O.$$

Diese Untersuchungen werden fortgesetzt.

Bern, Laboratorium des Prof. Nencki, November 1883.

---

# Ueber die Einwirkung von Phosphorchloriden auf Phenanthrenchinon

von

**Br. Lachowicz.**

Ber. 16, 330. (Eingegangen am 10. Februar; verlesen in der Sitzung von Herrn A. Pinner.)

In einer, in den Liebig'schen Annalen veröffentlichten Arbeit über die Constitution des Phenanthrens beschreibt G. Schultz [1]), dass er Phosphorpentachlorid auf Phenanthrenchinon einwirken liess, und bei dem Erwärmen beider Substanzen auf 150° eine anscheinend glatte Reaction stattfand. Das von ihm erhaltene Reactionsproduct sei aber eine rothe, harzige Substanz gewesen, die sich aus Lösungsmitteln nicht umkrystallisiren und reinigen liess, so dass er von ihrer Untersuchung Abstand genommen habe.

Gelegentlich einer vor Kurzem unternommenen Untersuchung in der Phenanthrengruppe habe auch ich die Einwirkung von Phosphorpentachlorid auf Phenanthrenchinon studirt und gefunden, dass dabei ein schön krystallisirendes Product entsteht, das auf folgende Weise leicht isolirt werden kann.

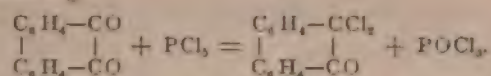
Trockenes Phenanthrenchinon wird in mehreren Kölbchen, in Portionen zu etwa 5 g, mit äquivalenten Mengen Phosphorpentachlorid vermengt. Nach ruhigem Stehen in 5 bis 10 Minuten, sofort aber beim gelinden Erwärmen auf dem Wasserbade tritt heftige Reaction ein, die Masse schmilzt, und nach beendigter Einwirkung erstarrt sie krystallinisch. Die Krystallmasse wird nun in wenig heissem Chloroform gelöst und filtrirt. Aus dem Filtrate krystallisirt die neue Verbindung in den für sie charakteristischen hellgelben rhombischen Prismen aus. Die abgeschiedenen Krystalle abfiltrirt, zwischen Fliesspapier abgepresst, liefern nach ein- bis zweimaligem Umkrystallisiren aus Chloroform chemisch reines Product. Die Elementaranalysen eines so erhaltenen, über Schwefelsäure getrockneten Präparates ergaben folgende Zahlen:

---

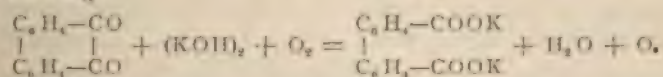
[1]) Ann. Chem. Pharm. **196**, 10.

| | Gefunden | Berechnet für $C_{14}H_8OCl_2$ |
|---|---|---|
| C | 63.81 Proc. | 63.87 Proc. |
| H | 3.32 „ | 3.04 „ |
| Cl | 26.88 „ | 26.98 „ |

Die Einwirkung des Fünffachchlorphosphors auf Phenanthrenchinon geschieht nach folgender Gleichung:

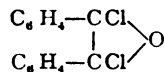
$$\begin{matrix} C_6H_4-CO \\ | \quad\quad | \\ C_6H_4-CO \end{matrix} + PCl_5 = \begin{matrix} C_6H_4-CCl_2 \\ | \quad\quad | \\ C_6H_4-CO \end{matrix} + POCl_3.$$

Ausser der neuen Substanz, die ich als Phenanthrendichlorketon bezeichne, Phosphoroxychlorid und etwas harzigen Substanzen habe ich bei der Reaction keine anderen Producte nachweisen können. Verwendet man auf ein Aequivalent des Phenanthrenchinons zwei Aequivalente Phosphorpentachlorid, so erhält man ebenfalls nur das Dichlorproduct, jedoch in bedeutend geringerer Menge, hauptsächlich aber rothes, nicht krystallisirendes Harz.

Das Phenanthrendichlorketon schmilzt im Capillarröhrchen bei etwa 165°, indem es sich schon bei 140 bis 150° bräunt. Es ist leicht löslich in Chloroform und Benzol, weniger in Aether und schwer in kaltem Alkohol, weshalb es auch vortheilhaft ist, das aus Chloroform auskrystallisirte und abgepresste Rohproduct mit kaltem absolutem Alkohol zu waschen, wodurch für viele Reactionen hinreichend reines Material erhalten wird. Beim Erhitzen mit Alkohol wird das Phenanthrendichlorketon zersetzt unter Bildung eines in orangerothen, krystallinischen Krusten sich abscheidenden Körpers. Gegen Säuren und Alkalien verhält sich das Dichlorproduct genau so wie das Phenanthrenchinon, offenbar indem es unter Aufnahme von Wasser und Abspaltung von 2 Molekülen Salzsäure in das letztere übergeht. Mit alkoholischer Kalilösung übergossen, wird es gelöst und die Flüssigkeit färbt sich dunkel. An der Luft geschüttelt, hellt sich dann die Lösung auf, wobei sie, im dunkeln Zimmer betrachtet, ziemlich intensiv mit rein weissem Licht phosphorescirt. Die gleiche Erscheinung zeigt auch das Phenanthrenchinon in alkalischer Lösung: beim ruhigen Stehen an der Luft wird die Flüssigkeit dunkel, hellt sich beim Schütteln auf und leuchtet im Dunkeln. Lässt man sie dann ruhig stehen, so bräunt sie sich von Neuem und hört auf zu phosphoresciren. Die Phosphorescenz der alkalischen Lösung beruht auf der Oxydation des Phenanthrenchinons durch atmosphärischen Sauerstoff zu Diphensäure. Sie entsteht hierbei zu etwa 50 Proc. nach der Gleichung:

$$\begin{matrix} C_6H_4-CO \\ | \quad\quad | \\ C_6H_4-CO \end{matrix} + (KOH)_2 + O_2 = \begin{matrix} C_6H_4-COOK \\ | \\ C_6H_4-COOK \end{matrix} + H_2O + O.$$

Ausser der Diphensäure, welche durch die Elementaranalyse und Schmelzpunktbestimmung identificirt wurde, bilden sich noch harzige Producte; offenbar durch Einwirkung des entstehenden atomistischen Sauerstoffs auf noch unverändertes Phenanthrenchinon.

Die Laubenheimer'sche Reaction, welche für das Phenanthrenchinon charakteristisch ist, zeigt auch das erhaltene Dichlorproduct. Die Substitution eines Sauerstoffatoms durch zwei Chloratome im Phenanthrenchinon findet ihre einfache Er-

klärung in der ketonartigen Constitution dieses Körpers. Die Annahme, dass dem von mir erhaltenen Körper die Structurformel:

$$\begin{matrix} C_6H_4-CCl \\ | \\ C_6H_4-CCl \end{matrix}\!\!>O$$

zukommt, ist weniger wahrscheinlich.

Wird Phenanthrenchinon mit überschüssigem Phosphortrichlorid am Rückflusskühler auf dem Wasserbade erwärmt, so löst sich nach kurzer Zeit das Phenanthrenchinon darin auf, wobei es in ein in weissen Nadeln krystallisirendes Product verwandelt wird. Nach Entfernung des Phosphortrichlorids und des entstandenen Oxychlorids ist es mir gelungen, durch Umkrystallisiren aus Chloroform auch diese Substanz zu isoliren. Da jedoch die Reindarstellung grösserer Mengen der schon an der Luft leicht veränderlichen und sehr reactionsfähigen Substanz mit Schwierigkeiten verbunden ist, so beschränke ich mich für jetzt auf diese Notiz, die weitere Untersuchung der von mir erhaltenen Substanzen und ihrer Derivate mir vorbehaltend.

Bern. Nencki's Laboratorium.

# Ueber Dichlorphenanthron und seine Reductionsproducte

von

**Br. Lachowicz.**

Journ. prakt. Chem. 28, 168. — Nach dem Referate von Dr. Schotten. Ber. 16, 2518 abgedruckt.

Das Phenanthrendichlorketon (s. obigen Artikel) genannte Dichlorphenanthron wird mit Vortheil dargestellt, indem das Phenanthrenchinon mit Phosphorchlorid in Gegenwart von Benzol am Rückflusskühler digerirt wird. Die sich nach dem Erkalten ausscheidende Krystallmasse wird mit Ligroin und Alkohol abgewaschen und aus Benzol oder Chloroform auskrystallisirt. Durch Salpetersäure von 1.3 spec. Gewicht wird das Dichlorphenanthron leicht in Nitroproducte übergeführt. In warmem Eisessig gelöst, mit Eisenpulver versetzt, bis die Farbe aus Braun in Grün übergegangen ist, wird es reducirt. Wird die heiss filtrirte Lösung in Wasser gegossen, so scheidet sich das Monochlorphenanthron in weissen Flocken aus. Aus Eisessig umkrystallisirt, bildet dasselbe gelbliche, bei 122° schmelzende Prismen. Es ist leicht löslich in Alkohol, Aether, Benzol, Ligroin und Chloroform. Von kaustischen Alkalien wird es beim Erwärmen ohne Veränderung gelöst; von alkoholischem Ammoniak auch durch längeres Kochen nicht verändert. Mit Salpetersäure (1.3) erwärmt, geht es in Nitrophenanthronchinon über (Schmelzp. 281°). Bei länger fortgesetzter Reduction entsteht aus dem Dichlorphenanthron das Phenanthron, $C_{14}H_{10}O$ (Schmelzp. 148°). Es wird durch Umkrystallisiren aus Propyl- oder Butylbromid gereinigt. Von fixen Alkalien wird es mit grüner Farbe gelöst

und durch Säuren unverändert wieder gefällt. Mit Natriumbisulfit verbindet es sich ebenso wenig, wie das Monochlorphenanthron. Auch phosphoresciren die alkalischen Lösungen der beiden Reductionsproducte nicht mehr. Was die Constitution der genannten Körper betrifft, so enthalten sie alle eine unveränderte Carbonylgruppe.

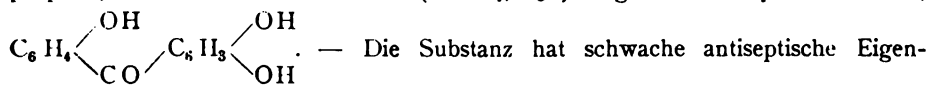
Herr Br. Lachowicz hat während seiner Anwesenheit im Laboratorium des Prof. Nencki eine Abhandlung im Journal für praktische Chemie **28**, 154 „Ein Beitrag zur chemischen Statik" publicirt. Dieselbe hat eine Polemik zwischen ihrem Autor und Prof. H. Kolbe, damaligem Redacteur des Journals, hervorgerufen. Die von Herrn Lachowicz bei dieser Arbeit berührten Fragen standen in keinem Verhältniss zu den experimentellen Untersuchungen, mit denen das Laboratorium von Prof. Nencki befasst war. H.

# Ueber die antiseptische Wirkung des Salicylresorcinketons

von

## P. Repond.

In.-Diss. Bern. — Nach dem Referate von Prof. Dr. M. Gruber, Maly's Jahresber. **13**, 417.

Die leicht löslichen Dihydroxylbenzole haben eine sehr schnell vorübergehende antipyretische Wirkung und unangenehme Nebenwirkungen auf das Gehirn und Herz. Verfasser versuchte deshalb auf Rath Nencki's ein schwerlösliches Resorcinpräparat, das von Arthur Michael (Ber. **14**, 658) dargestellte Salicylresorcinketon, $C_6H_4\langle{}^{OH}_{CO}\rangle C_6H_3\langle{}^{OH}_{OH}$. — Die Substanz hat schwache antiseptische Eigenschaften; Ochsenpankreas, mit 0.5 g in 100 ccm Wasser suspendirt, begann erst am fünften Tage zu faulen. Im Körper wird sie theilweise in Salicylsäure und Resorcin zerlegt, wie aus der Vermehrung der gepaarten Schwefelsäuren und dem Auftreten von Salicylsäure im Harn erkannt wurde. Auf der chirurgischen Klinik von Kocher wurde das Präparat mit gutem Erfolge als Antisepticum bei Verbänden verwendet. Dr. Bourquin fand, dass es, innerlich genommen, entschieden antipyretisch wirkt, ohne unangenehme Nebenerscheinungen. — Das von Michael dargestellte Salicylphenol, $C_6H_4\langle{}^{OH}_{CO}\rangle C_6H_4{-}OH$, wird im Körper nicht zerlegt, sondern als Aetherschwefelsäure ausgeschieden. Es hat nur sehr unbedeutende Wirkung. — Durch Fäulnissversuche mit Pankreas stellte Verfasser ferner fest, dass Phenanthrenchinon, Phenanthrenglycolsäure und Sulfanilsäure keine, Oxysulfobenzid, Salicylaldehyd und Paraoxybenzaldehyd schwache antiseptische Wirkung haben. Furfurol hemmt schon in 0.5 proc. Lösung die Fäulniss des Pankreas.

# Ueber die Bildung von Wasserstoff bei der Fäulniss und die Activirung des Sauerstoffs

von

**A. Złotnicki.**

In.-Diss. Bern. Geschrieben im Juni 1882, der medicin. Facultät vorgelegt im Juli 1883. Referirt von den Herausgebern.

Diese Arbeit bildet eine Fortsetzung der Untersuchungen, welche im Berner Laboratorium unternommen wurden. Gegen den Versuch von Prof. Nencki (s. diesen Band, S. 565), dass bei der Fäulniss in Gegenwart von reinem Sauerstoff Wasserstoff entweicht, wurde von Hoppe-Seyler die Einwendung erhoben, „dass an den Orten, wo Wasserstoff sich entwickelte, Sauerstoff nicht zugegen war; grob zerstückelte Gewebe (im Versuche von Prof. Nencki zerkleinertes Pankreas) können in keiner Weise eine Garantie dafür bieten, dass der Sauerstoff mit derselben Geschwindigkeit in das Innere der Brocken eindringt, als der Fäulnissprocess fortschreitet". — Auf Veranlassung von Prof. Nencki hat Dr. Złotnicki die Frage über die Wasserstoffbildung bei anwesendem Sauerstoff einer genaueren Prüfung unterworfen. Die Versuche wurden mit den filtrirten Gewebssäften oder Eiweisslösungen, die demnach frei von Gewebspartikeln waren, angestellt. Solche Lösungen wurden einerseits bei Luftausschluss, andererseits im Sauerstoffgase bei der Bruttemperatur der Fäulniss überlassen und die in den verschiedenen Stadien des Fäulnissprocesses entweichenden Gase analysirt. Die Analysen ergaben folgende Zahlen:

## I. Versuche mit Pankreassaft.

A. Bei Luftausschluss.

Das nach 40 Stunden der Fäulniss gesammelte Gas enthielt in Volumprocenten: 93.36 Proc. $CO_2$, 5.27 Proc. H und 1.37 Proc. N.

B. Bei anwesendem Sauerstoff.

Die Analyse des nach 40stündiger Fäulniss gesammelten Gases lieferte folgendes Resultat: 82.13 Vol.-Proc. $CO_2$, 2.17 Proc. H, 13.23 Proc. O und 2.47 Proc. N.

In der Flüssigkeit bildete sich bei der Fäulniss ein Gerinnsel. Um diesem Uebelstande abzuhelfen, wurde in einem anderen Versuche zum Pankreassaft 0.25 Proc. NaOH zugesetzt. Es trat aber wegen starker Alkalinität keine Fäulniss auf.

In einer neuen Portion von 4.19 Proc. Eiweissgehalt wurde 0.08 Proc. NaOH zugesetzt. Das nach 17 Stunden gesammelte Gas hatte folgende Zusammensetzung: 53.36 Proc. $CO_2$, 3.58 Proc. H, 37.79 Proc. O und 5.27 Proc. H. Zweite Portion des Gases nach 25 Stunden: 63.17 Proc. $CO_2$ und 17.15 Proc. O. Dritte Portion nach 48 Stunden: 76.96 Proc. $CO_2$ und 11.98 Proc. O.

## II. Versuche mit Lebersaft.

A. Bei Luftausschluss.

Der Lebersaft mit 5.57 Proc. Eiweissgehalt. Das nach 90 Stunden gesammelte Gas enthielt in Volumprocenten 69.25 Proc. $CO_2$, 26.13 Proc. H, 0.50 Proc. $CH_4$ und 4.12 Proc. N.

B. Bei anwesendem Sauerstoff.

Es wurde Lebersaft mit 9.85 Proc. Eiweissgehalt der Fäulniss überlassen. Die Analyse des nach 40 stündiger Fäulniss gesammelten Gases ergab folgendes Resultat: 69.65 Proc. $CO_2$, 9.72 Proc. H, 16.10 Proc. O und 4.53 Proc. N. Zweite Portion des Gases nach 64 Stunden enthielt: 73.68 Proc. $CO_2$, 20.98 Proc. H, 1.30 Proc. O und 4.04 Proc. N.

Zu der anderen Portion der Flüssigkeit mit 5.46 Proc. Eiweissgehalt wurde Alkali (0.5 Proc. NaOH) zugesetzt. Das Gas, nach 48 Stunden gesammelt, enthielt: 66.69 Proc. $CO_2$. Nach 72 Stunden: 79.81 Proc. $CO_2$, 18.25 Proc. H, 0.09 Proc. O und 1.25 Proc. N.

## III. Versuche mit Eiereiweiss.

A. Bei Luftausschluss.

Die Mischung enthielt 2.5 Proc. Eiweiss. Das nach 6 Tagen gesammelte Gas enthielt: 38.36 Proc. $CO_2$, 57.28 Proc. H und 4.36 Proc. N.

B. Bei vorhandenem Sauerstoff.

Eiweissgehalt gleich 5.0 Proc. Während 6 Tagen fand keine Gasentwickelung statt. Dann wurden der Flüssigkeit ungefähr 50 ccm Lebersaft zugesetzt und der Kolben noch einmal mit Sauerstoff gefüllt. Nach 40 stündiger Fäulniss enthielt das gesammelte Gas 30.36 Proc. $CO_2$, 62.53 Proc. O und 7.11 Proc. N. Die zweite Portion nach 64 Stunden: 53.78 Proc. $CO_2$, 40.08 Proc. O und 6.14 Proc. N. Die dritte Portion nach 96 Stunden: 66.14 Proc. $CO_2$, 28.73 Proc. O und 5.13 Proc. N.

## IV. Versuche mit Ascitesflüssigkeit.

Bei vorhandenem Sauerstoff.

Eine seröse Flüssigkeit mit 4.12 Proc. Eiweissgehalt durch Zusatz von 30 ccm Pankreassaft zum Faulen gebracht. Erste Portion des Gases nach 48 Stunden gesammelt: 52.25 Proc. $CO_2$, 18.10 Proc. H, 24.66 Proc. O und 4.99 Proc. N. Zweite Portion nach 4 Tagen: 71.31 Proc. $CO_2$, 12.01 Proc. H, 12.91 Proc. O und 3.77 Proc. N.

Da bei diesem Versuche in Folge stattgefundener Fäulniss sich ein voluminöses Gerinnsel gebildet hatte, wurde die Flüssigkeit defibrinirt und mit 50 ccm Pankreassaft versetzt. Während der Fäulniss fand jetzt keine Coagulation statt. Die erste Portion des Gases wurde nach 24 Stunden gesammelt: 49.46 Proc. $CO_2$, 33.92 Proc. H, 11.93 Proc. O und 4.69 Proc. N. Zweite Portion nach 48 Stunden: 69.10 Proc. $CO_2$, 23.56 Proc. H, 3.98 Proc. O und 3.36 Proc. N.

V. Versuche mit Gelatine.

Als Fäulnissflüssigkeit wurde 5 proc. Gelatinelösung und zwar bei Luftausschluss benutzt. Nach 93 Stunden wurde die erste Portion des Gases aufgefangen, das aber nur aus Kohlensäure bestand. Die zweite, am folgenden Tage gesammelte Portion bestand ebenfalls nur aus Kohlensäure.

Aus diesen Zahlen ergiebt es sich, dass nur in einem Versuche, nämlich mit Eiereiweiss bei anwesendem Sauerstoff, kein Wasserstoff entwickelt wurde, hierbei war aber die Fäulniss sehr schwach und dementsprechend sehr wenig Gas entwickelt. Hierin liegt jedenfalls die Ursache des fehlenden Wasserstoffs; denn in allen anderen Versuchen, in welchen die Fäulniss viel intensiver stattfand, wurde trotz der Gegenwart des Sauerstoffs Wasserstoff entwickelt.

Der Verfasser ist der Meinung, dass bei der Fäulniss die Wasserstoffentwickelung am allerwenigsten von der An- oder Abwesenheit des Sauerstoffs abhängt. Dagegen maassgebend hierfür sind, erstens: die bestimmte Art des die Fäulniss bewirkenden Spaltpilzes und zweitens: die chemische Zusammensetzung der als Nährlösung dienenden Substanz. Während z. B. Lösungen von Eiereiweiss oder seröse Flüssigkeiten, mit etwas pankreatischem Saft inficirt, bei der Fäulniss reichlich Wasserstoff entwickeln, entwickelt Gelatine, mit dem gleichen Saft inficirt, auch bei völligem Sauerstoffausschluss nur Kohlensäure. Dies ist der gewöhnliche Fall. Es gelingt aber, wenn auch selten, aus der gleichen Gelatine und unter sonst anscheinend gleichen Bedingungen ausser Kohlensäure auch reichliche Wasserstoffentwickelung hervorzurufen. Ein solcher Fall ist von Prof. Nencki beschrieben [1]) worden und die wahrscheinlichste Ursache dieser Erscheinung ist die, dass in dem zugesetzten pankreatischen Safte eine nicht häufig vorkommende, auch aus Gelatine Wasserstoff entwickelnde Spaltpilzspecies enthalten war.

Am Schlusse seiner Arbeit hebt der Verfasser hervor, dass die chemischen Processe, welche bei der Fäulniss resp. Fermentation stattfinden, nicht identisch mit den Lebensprocessen der Thiere sein können.

---

## Ueber den diagnostischen Werth der Urobilinurie für die Gynäkologie

von

**Dr. Rud. Dick,**
Docent für Gynäkologie in Bern.

Archiv f. Gynäkologie 23, Heft 1

Das Urobilin ist zuerst von Jaffé (Virchow's Archiv **47**) aus normalem und febrilem Harne dargestellt worden, welcher Autor auch zuerst die wichtigeren Eigenschaften dieses Farbstoffes beschrieben hat. Kurz darauf ist es Maly [Liebig's Annalen der Chemie und Pharmacie (1872), **163**, 77] gelungen, durch Reduction mittelst Natriumamalgam aus dem Gallenfarbstoffe, dem Bilirubin, Urobilin darzu-

[1]) Journ. prakt. Chem. **19**, 337. — Dieser Band, S. 444.

stellen, weshalb Maly diesen Farbstoff Hydrobilirubin nannte, obgleich er ihn vermöge seiner charakteristischen Eigenschaften als identisch mit dem Urobilin von Jaffé erkannte.

Das Urobilin ist ein amorphes, braunrothes Pulver, das den Charakter einer schwachen Säure hat, leicht in Alkohol, wenig aber doch in Wasser, leicht in Alkalien löslich ist. Die verdünnten alkalischen Lösungen sind gelb von der Nuance normalen Harnes, auf Säurezusatz werden sie roth.

Für die qualitative Erkennung des Farbstoffs ist seine bemerkenswertheste Eigenschaft die, dass in verdünnter Lösung ein charakteristisches Absorptionsband zwischen Grün und Blau, entsprechend den Fraunhofer'schen Linien *b* und *F* im Spectrum erscheint.

Nicht weniger charakteristisch ist die grüne Fluorescenz, welche in ammoniakalischer Lösung des Farbstoffs der Zusatz von einigen Tropfen Chlorzinklösung hervorruft.

Ausser durch Reduction des Bilirubins soll nach den Angaben von Hoppe-Seyler durch Behandeln des Hämatins mit Zinn und Salzsäure Urobilin entstehen.

Jaffé giebt an, dass durchschnittlich in 10 Proc. der von ihm untersuchten Harne, namentlich bei Fieber, Urobulin nachgewiesen werden konnte.

Wie mir Prof. Nencki, auf dessen Laboratorium meine Untersuchungen vorgenommen wurden und für dessen gütige Zuvorkommenheit ich ihm hiermit meinen Dank ausspreche, mittheilte, ist das Urobilin ein constanter Bestandtheil jedes Menschenharnes und lässt sich aus letzterem durch Ansäuern mit Salzsäure, Ausschütteln mit Amylalkohol und spectroskopische Prüfung der amylalkoholischen Lösung das Urobilin leicht nachweisen. Auch im Harne der Hunde, sowie der Pflanzenfresser kommt Urobilin constant vor und kann nach gleichem Verfahren aus diesen Harnen extrahirt werden. Oefters ist das Urobilin, namentlich bei Thieren, nicht als solches, sondern in einem reducirten Zustande enthalten, so dass die amylalkoholische Lösung erst nach mehrstündigem Stehen an der Luft den charakteristischen Streifen zwischen *b* und *F* im Spectrum zeigt.

Die Mengen, in welchen das Urobilin im Harne auftritt, sind ausserordentlich wechselnd: während aus den meisten Harnen erst durch Extraction mit Amylalkohol sich Urobilin nachweisen lässt, zeigt in vielen Fällen, namentlich bei Fieber, der saure Harn bei der spectroskopischen Untersuchung ohne Weiteres den Urobilinstreifen.

Es ist Gerhardt (Wiener medicinische Wochenschrift 1877) zuerst gewesen, der auf das Vorkommen von abnorm grossen Mengen von Urobilin im Harne bei gewissen Krankheiten aufmerksam machte, und von welchem auch die Bezeichnung des Urobilinikterus herrührt, und Bergmann (Volkmann'sche Vorträge, Nr. 190) hat den Uebergang von Urobilin in abnorm grossen Mengen als diagnostisches Moment für Blutungen im Gehirne verwerthet. Auch wurde sonst noch bei Lungeninfarcten, Herzhypertrophie, sowie auch bei Verletzungen und daherigen Blutextravasaten in die Gewebe das Auftreten von Urobilinurie beobachtet. Ich will noch hier die Arbeiten von Cordua (Ueber den Mechanismus der Resorption von Blutergüssen), Kunkel (Ueber das Auftreten verschiedener Farbstoffe im Urin. Virchow's

Archiv 1880, **79**, 455), sowie Quincke (Beiträge zur Lehre vom Ikterus. Virchow's Archiv 1884, **95**) nennen, welch letzter Autor gegen die Aufstellung eines Urobilinikterus auftritt, indem nach seiner Ansicht derartige Fälle nur geringere Grade eines Gallenikterus sind.

Wie aus dem Gesagten hervorgeht, beschränken sich die bis dahin gemachten Beobachtungen über Urobilinurie nur auf Fälle, die ausserhalb des gynäkologischen Gebietes liegen. Soviel mir bis zur Stunde aus der gynäkologischen Fachliteratur bekannt geworden ist, wurde Urobilinurie bei gynäkologischen Erkrankungen weder beobachtet, noch ist dieselbe zu diagnostischen Zwecken in der Gynäkologie verwerthet worden.

Drei Beobachtungen diesbetreffender Natur scheinen mir deshalb einer Publication und Besprechung würdig zu sein, um die Fachgenossen auf derartige Fälle aufmerksam zu machen und den diagnostischen Werth der Urobilinurie zur Geltung zu bringen, sei dies zur Erhärtung einer schon bestimmten Diagnose oder zur Sicherung einer solchen in zweifelhaften Fällen, und zwar bei Blutungen in die Abdominalhöhle.

Die Urobilinurie charakterisirt sich nun zunächst dadurch, dass je nach der Menge des im Harne auftretenden Farbstoffes der Urin eine hell- bis tiefbraune Farbe annimmt, die so auffällig ist, dass beim ersten Anblicke schon man darauf geführt wird, dass etwas Abnormes im Harne vorhanden sein müsse; dabei ist der Urin klar, wenn nicht andere Complicationen seitens der Harnwege vorhanden sind oder beim Erkalten desselben sich Urate ausgeschieden haben; die Reaction ist eine saure. In zwei der von mir beobachteten Fälle war der Schaum des geschüttelten Harnes gelb und zwar dermaassen, dass die Gegenwart von Gallenfarbstoff sicher zu sein schien. Dauert die Urobilinurie nicht allzu kurze Zeit, sondern einige Tage, so kommt es durch Ablagerung von Urobilin in der ganzen Haut und der Conjunctiva zur Bildung einer schmutzig bräunlichen Verfärbung dieser Theile: es entsteht der mit dem besonderen Namen bezeichnete Urobilinikterus, zum Unterschiede vom gewöhnlichen Gallenikterus.

Nach erfolgtem Blutergusse tritt das Urobilin nicht sogleich im Harne auf, wie dies auch leicht zu erwarten steht, sondern es müssen immerhin einige Tage darüber verstreichen, bis das ergossene Blut die zur Urobilinurie führenden nöthigen Umwandlungen durchgemacht hat.

Ich will nun in Kürze die den Beobachtungen zu Grunde gelegten Fälle mittheilen und daran dann noch einige Bemerkungen anknüpfen.

1. Frau B., 29 Jahre alt, hat drei Mal normal geboren; ein Mal abortirt; war immer regelmässig vierwöchentlich menstruirt.

Am 9. Januar 1883 plötzlich mit Schmerz im Bauche erkrankt, nachdem die Menses sechs Wochen lang ausgeblieben waren; ich fand einige Stunden nachher die Patientin ohnmächtig, mit kalten Extremitäten, Puls 150; auffallende Blässe, leichte Dämpfung in den abhängigen Partien des Abdomen, leichte Druckempfindlichkeit; die Vaginaluntersuchung ergab einen etwas vergrösserten, normal gelagerten Uterus, unbestimmte leichte Resistenz im linken Perimetrium. Diagnose: interne Blutung, wahrscheinlich Platzen des Sackes einer Extrauteringravidität. Auf Aetherinjectionen und sonstige Analeptica erholte sich Patientin von dem drohenden Collapse.

Am 10. Januar, Abends, Temperatur 38.5, von da an stieg die Temperatur nie mehr über 38.0.

Am 11. Januar wird ein mir sofort auffälliger kaffeebrauner Urin entleert. Prof. Nencki untersuchte den Harn mit folgendem Resultate: kein Sediment, kein Eiweiss, Reaction sauer; kein Gallenfarbstoff, reichlich Urobilin.

12. Januar. Urin kaffeebraun; leichter Ikterus.

13. Januar. Abgang einer ganzen hypertrophischen Decidua aus dem Uterus, von Prof. Langhans als Schwangerschaftsdecidua erklärt. Urin kaffeebraun. Ikterus.

14. Januar. Urin weniger dunkel gefärbt. Ikterus.

15. Januar. Urin fast normal gefärbt. Ikterus schwach.

16. Januar. Keine abnorme Menge Urobilin mehr.

Während der ganzen Erkrankung war niemals im Abdomen ein abgekapseltes Exsudat zu fühlen. Ausgang in Heilung.

Diagnose: Graviditas extrauterina; Platzen des Fruchtsackes, freier Bluterguss in die Bauchhöhle. Urobilinurie.

2. Frau Ch., 30 Jahre alt, hat nie geboren, vor neun Jahren ein Mal abortirt mit nachfolgender Pelvioperitonitis. Menses meist etwas retardirt, doch nie mit längeren Intervallen eintretend als zehn Tage über vier Wochen.

Am 10. August 1883 wurde Patientin auf einer Vergnügungsreise Morgens im Hôtel beim Aufstehen und Erheben der Arme zum Kämmen von einem plötzlich auftretenden Schmerze links im Unterleibe befallen, nachdem die Menses sechs Wochen ausgeblieben waren; es folgte Ohnmacht. Ein herbeigerufener Arzt constatirte einen Erguss in die Bauchhöhle. Puls klein 150. Kein Fieber.

Am 11. August in Folge von Aufsitzen im Bette erneute innere Blutung; Collaps. Als Consiliartus herbeigerufen, constatirte ich den vom behandelnden Arzte angenommenen Befund. Puls nicht zählbar, Bauch sehr empfindlich gespannt. Temperatur 38.0. Brechreiz und Erbrechen. Uterus anteflectirt, sehr empfindlich, etwas gross, weich, im Douglas'schen Raume etwas nach links eine unbestimmte Resistenz. Bei Verordnung von Eisblase, Aetherinjectionen, absoluter Ruhe erholte sich Patientin vom Collapse.

Diagnose: innere Blutung, Graviditas extrauterina mit Platzen des Fruchtsackes.

Auf diese Diagnose hin machte ich den behandelnden Arzt auf das in Aussicht stehende Abgehen einer Decidua und die zu erwartende braune Färbung des Urins (Urobilinurie) aufmerksam; diese Voraussage bestätigte sich auch in der Folge.

12. August. Temperatur 37.5, 38.7; Puls 120 bis 130.

14. August. Abgang einer Schwangerschaftsdecidua.

16. August. Urin ziemlich hell, viel Urate enthaltend.

17. August. Urin dunkel kaffeebraun, klar, kein Sediment, sauer, kein Blut oder Gallenfarbstoff, keine Gallensäuren, viel Urobilin; zum Nachweis des letzteren musste der Harn mit dem 20fachen Volumen Wasser verdünnt werden, um den Absorptionsstreifen im Spectrum bei einer 1 cm dicken Flüssigkeitsschicht sichtbar zu machen. Leichter Ikterus.

21. August. Temperatur seit dem 13. schwankend zwischen 37.5 und 38.5. Patientin erholt sich; keine Dämpfung mehr im Abdomen; dasselbe weich, unempfindlich, Uterus antevertirt, unempfindlich, links eine Resistenz von Eigrösse. Ikterus ziemlich stark. Der Urin enthielt bis zum 24. August Urobilin in grossen Mengen. Ikterus bis zum 25. August bemerkbar.

Der am 21. August untersuchte Urin zeigte Folgendes: specifisches Gewicht 1.022, stark saure Reaction; bei der spectroskopischen Untersuchung bei einer 1 cm dicken Flüssigkeitsschicht ist nur das Roth und Grün im Spectrum bemerkbar, erst nach fünffachem Verdünnen des Harnes mit Wasser wird der Absorptionsstreifen in gleicher Breite wie beim vorigen Harne erhalten.

Am 26. August Temperatur 38.5, 39. Uterus etwas vergrössert, links neben demselben eine unregelmässig höckerige Geschwulst von Eigrösse.

27. August 38.2, 38.3.
28. August 37.7, 38.3.
29. August 37.5, 38.2.
30. August 37.4. 38.1.

Am 8. September Schmerzen in der Blase vor und beim Uriniren; der Urin ist trübe, enthält Eiweiss, Eiter und etwas Blut; zwei Mal gingen längliche Fibrincoagula aus der Blase ab. Blasenhals bei Druck und Katheterismus empfindlich. Diese Erscheinungen sind zurückzuführen auf einen kleinen perimetritischen Abscess, der sich in die Blase entleert hatte. Der Tumor links neben dem Uterus verkleinerte sich von da an ziemlich rasch und Patientin genas. Ende September stellten sich die Menses wieder ein und verliefen normal.

3. Frau W., 35 Jahre alt, hat vier Mal geboren, einmal Abortus im Gefolge von Typhus, nachher nach Angabe Unterleibsentzündung. Menses immer regelmässig bis Anfangs Juli 1883, seit welcher Zeit immer etwas Blut abging. Anfangs August, zur Zeit, wo die eigentliche menstruelle Blutung wieder hätte eintreten sollen, setzte sich Patientin einer starken körperlichen Anstrengung aus; die Menses traten nicht ein, seither Schmerz im Unterleibe und Fieber.

Am 11. September (als Consiliarius beigezogen) fühlte man in der Mitte aus dem kleinen Becken aufsteigend einen apfelgrossen Tumor, der nach links einen eigrossen Fortsatz bis zum Darmbeinkamme aussendet; der linke Theil ist unregelmässig höckerig; Vaginalportion nach vorn an die Symphyse gedrängt, durch einen teigigen, unregelmässig höckerigen Tumor im Douglas'schen Raume, der sich nach links in den von aussen gefühlten Tumor fortsetzt und rechts bis an die Beckenwand reicht; der Tumor in der Mitte erweist sich durch Sondeneinführung als der vergrösserte Uterus.

Urin tief kaffeebraun, enthält sehr viel Urobilin; starker Ikterus.

Da ich den Fall nicht von Anfang an beobachtet hatte und über das Entstehen des Tumor nicht aufgeklärt wurde, so war eine bestimmte Diagnose nicht zu machen; gestützt aber auf den grossen Gehalt des Urins an Urobilin und den Ikterus nahm ich einen Bluterguss in die Abdominalhöhle an, der aber in diesem Falle durch entzündliche Vorgänge abgekapselt sein musste.

Wahrscheinlichkeitsdiagnose: Haematocele retrouterina; ob auch hier eine Extrauterinschwangerschaft im Spiele gewesen sein mag, bleibe dahingestellt. Die Diagnose bestätigte sich auch dem späteren Verlaufe nach.

12. September. Urin sauer, kaffeebraun; gelber Schaum beim Schütteln, kein Gallenfarbstoff oder Gallensäuren; kein Eiweiss; spectroskopisch wird das Licht völlig bis auf Grün absorbirt, erst nach fünffacher Verdünnung mit Wasser wird der Absorptionsstreifen sichtbar.

14. September. Urin kaffeebraun, sauer, gelber Schaum beim Schütteln. Kein Gallenfarbstoff, noch Gallensäuren; Urobilinstreif im Spectrum bei fünffacher Verdünnung sichtbar.

15. September. Kein gelber Schaum mehr; schwacher Absorptionsstreifen in unverdünntem Harne.

16. September. Wieder etwas grösserer Gehalt an Urobilin, indem erst nach dreifacher Verdünnung der Absorptionsstreifen sichtbar wird.

17. September. Im unverdünnten Harne ist der Streifen sichtbar.

18. September. Kein Absorptionsstreif mehr sichtbar.

Bis zum 3. October sah ich die Patientin nicht mehr; an selbem Tage war der Urin klar und enthielt kein Urobilin mehr; der Tumor links war bedeutend kleiner geworden. Uterus gross mit unregelmässig knolliger Oberfläche (aufgelagerte Exsudatmassen); im Douglas'schen Raume ein apfelgrosser teigiger Tumor, der härtere und weichere Stellen zeigt.

Am 4. October Punction des retrouterinen Tumor und Aspiration mittelst Potin; es werden etwa 40.0 dunkles, bräunliches Blut entleert; bei der mikroskopischen Untersuchung finden sich spärliche rothe und weisse Blutzellen, feinkörnige Detritusmassen und Fibringerinnsel vor.

Bis zum 8. October Wohlbefinden, kein Fieber, Urin normal; auf diesen Zeitpunkt treten die Menses wiederum ein, aber sehr schwach, dabei vermehrte Schmerzen im Bauche.

10. October. Abends 39.0.

11. October. 38.4; 39.4.

12. October. 38.6; 40.1. Der Urin enthält wiederum sehr viel Urobilin; Ikterus; der Tumor ist bedeutend grösser, gespannter.

13. October. 38.9; 39.0. Ikterus; viel Urobilin.

14. October. 38.1; 39.1. Ikterus; viel Urobilin.

15. October. 38.1; 38.1. Tumor prall gespannt, Urin enthält wenig Urobilin; eine erneute Punction entleert 215 ccm kaffeebraune, faulige, dicke Flüssigkeit; dieselbe enthält spärliche rothe Blutkörper, Detritus, viel Eiterkörperchen, Hämatoidin in concentrisch gruppirten Nadeln und kugeligen Formen. Prof. Nencki theilte mir noch mit, dass aus der entleerten Flüssigkeit durch Ansäuern mit Salzsäure und Ausschütteln mit Amylalkohol in der Kälte er einen schönen fuchsinrothen Farbstoff erhielt, welcher, spectroskopisch untersucht, nur den Streifen des von ihm aus pathologischem Harne isolirten Farbstoffes, Uroroseïn, zeigte. Durch Alkalien wurde die schön rosenrothe Lösung, ähnlich wie die des Uroroseïns, entfärbt; danach sei es ihm wahrscheinlich, dass auch das Uroroseïn vom Blutfarbstoffe abstamme.

16. October. 37.0; 38.1. Wenig Urobilin; Spuren von Gallenfarbstoff. Ikterus.

17. October. 37.5; 39.1. Ikterus gering; wenig Urobilin.

18. October. 38.4; 39.1. Wenig Urobilin.

19. October. 39.0; 39.6. Kein Urobilin mehr; Ikterus vergangen.

20. October. 39.1; 40.6. Der Tumor vergrössert sich zusehends.

22. October. Der Tumor hinter dem Uterus reicht bis zum Nabel und ist sehr prall gespannt; grosse Schmerzen. Da ein Platzen des Hämatocelensackes zu fürchten war, wurde die Vornahme einer energischen Entleerung beschlossen und zu dem Zwecke im Fornix vaginae rechts, wo die Fluctuation am deutlichsten war, eine 4 cm lange Incision vorgenommen. Es entleerte sich sofort eine aashaft stinkende, dicke, jauchige, braunrothe Flüssigkeit, etwa 520.0 ccm. Irrigation mit 3 proc. Carbollösung. Der untersuchende Finger gelangt in eine sinuöse Höhle, die mit alten Blutgerinnseln ausgekleidet ist.

Die entleerte Flüssigkeit enthält: Hämatoidin in kugeligen Formen, keine Krystalle, jedoch in bedeutend geringerer Menge als bei der ersten Punction; mit Amylalkohol konnte diesmal Uroroseïnfarbstoff nicht erhalten werden. Detritus, sehr viele Eiterkörperchen. Urin enthält kein Urobilin.

Die Temperatur sank nach Eröffnung des Sackes in einigen Stunden auf 37.0; während 14 Tagen wurde ein Drainrohr in der Höhle liegen gelassen und permanente Irrigation mit 3 proc. Borsäurelösung administrirt. Die Temperatur blieb normal, und nach Verlauf von vier Wochen war der Sack auf ein Minimum reducirt und Patientin konnte aufstehen. Ausgang in Heilung.

Der Urin enthielt nach Entleerung der Hämatocele nie mehr Urobilin.

Die beiden Punctionen, sowie die Incision und der weitere Verlauf bestätigt die Diagnose: Haematocele retrouterina.

Wenn wir nun die drei von mir beobachteten Fälle etwas näher ins Auge fassen und uns die für die Urobilinurie wichtigen Erscheinungen analysiren, so finden wir bei den beiden ersten Patientinnen das Auftreten des Harnstoffes an einen klinisch diagnosticirten Bluterguss in die Bauchhöhle sich anschliessend, es ist somit kaum die Provenienz des im Harne ausgeschiedenen Urobilins aus verändertem, d. h. zu Grunde gegangenem Blute zu leugnen; im dritten Falle war es gerade das Auftreten von Urobilin im Harne, das zur Diagnose Haematocele retrouterina Veranlassung gab; die Punctionen und die Incision und Entleerung des Sackes

bestätigten die Diagnose und somit ist auch der dritte Fall den beiden anderen bezüglich der Entstehung der Urobilinurie an die Seite zu stellen.

Das Zustandekommen der Urobilinurie ist daher, abgesehen von fieberhaften Erkrankungen, Stauungsvorgängen in der Leber u. s. w., an den Austritt grösserer Mengen Blut gebunden, sei dieser nun in das interstitielle Bindegewebe, oder das Gewebe der verschiedensten Organe (wie Lunge, Gehirn u. s. w.) oder in seröse Höhlen erfolgt.

Es mag vielleicht befremdend erscheinen, warum in solchen Fällen nicht Hämoglobinurie entsteht. Beobachtungen und Versuche von Cordua haben aber dargethan, dass Hämoglubinurie nur dann entsteht, wenn eine gewisse Menge von Blut in der Gefässbahn selbst zu Grunde geht, oder wenn fremdartiges (d. h. von einer anderen Thiergattung stammendes) oder gefrorenes Blut in seröse Höhlen oder das Bindegewebe injicirt wird. Gelangt gleichartiges Blut in seröse Höhlen oder in das Bindegewebe, so werden nach den Beobachtungen von Langhans zum Theil die rothen Blutkörper von den Zellen des Bindegewebes aufgenommen und in Pigmentkörner verwandelt, sowie in krystallisirtes Bilirubin (Hämatoidin) umgewandelt. Diese Umwandlung der rothen Blutzellen in dem Bindegewebe und auch in den serösen Höhlen ist die Quelle der abnormen Mengen des Urobilins im Bindegewebe, resp. der Haut und im Harne. Auch Kunkel (Virchow's Archiv 1880, 79) spricht sich dahin aus, dass „Gallenfarbstoff und Urobilin Abkömmlinge des Blutfarbstoffes seien".

In dem von mir beschriebenen Falle Nr. 3, wo das ergossene Blut durch Punction entleert wurde, waren ausser den Pigmentkugeln noch eine ganze Menge von Hämatoidinkrystallen vorhanden; der Uebergang dieses Hämatoidins in den Harn als Urobilin speciell in diesem Falle wäre ganz analog dem Vorgange, wie er alltäglich bei jedem Gesunden stattfindet. Der mit der Galle in den Darm ergossene Gallenfarbstoff wird durch die im Darme stattfindenden Fäulnissprocesse unter Wasserstoffentwickelung in Urobilin verwandelt. Ein Theil des so entstandenen Urobilins wird mit den Excrementen entleert, wie dies Vaulair und Masius (Centralblatt für medicinische Wissenschaften 1871, Nr. 30) gezeigt haben, ein anderer Theil wird vom Darme aus resorbirt und geht in Harn über. Ich zweifle nicht daran, dass in dem letzten von mir beschriebenen Falle, wo die durch Incision entleerte Flüssigkeit zahlreiche Spaltpilze enthielt und im Stadium der ausgesprochensten Fäulniss sich befand, das dort vorhandene Hämatoidin, welches gerade deshalb als identisch mit Urobilin anzusehen ist, in Folge der Fäulniss in Urobilin verwandelt und so die Veranlassung des Urobilinikterus wie der Urobilinsäure wurde. In den zwei ersteren Fällen, wo jede Fäulniss ausgeschlossen ist, wie auch in den sonst nach Blutextravasaten beobachteten Fällen von Urobilinurie, wie z. B. bei Hirnapoplexien, Lungeninfarct und dergleichen mehr, müssen im Körper anderweitige günstige Bedingungen für das Zustandekommen der Reduction des Hämatoidins zu Bilirubin vorhanden sein, obgleich ich zugeben muss, dass experimentell ein Nachweis dafür noch geliefert werden müsste.

Dass Reductionsvorgänge im menschlichen Organismus, abgesehen von den mit Wasserstoffentwickelung verbundenen Fäulnissprocessen im Darmcanale, statt-

finden, dafür spricht die kürzlich von Mering (Zeitschr. f. physiol. Chem. **6**, 480), sowie von Külz (Pflüger's Archiv **28**, 506) beobachtete Umwandlung des Chlorals, d. h. des Trichloraldehyds zu Trichloralkohol, welche Umwandlung des ersteren durch Aufnahme von Wasserstoff zum letzteren geschieht.

Ein Einwand dagegen, dass ein Bluterguss in den beobachteten Fällen das ursächliche Moment der Urobilinurie gewesen sei, könnte noch gemacht werden, und das wäre der, dass das Urobilin, das in vielen Fällen von fieberhaften Erkrankungen des Körpers im Harne vorgefunden wird, durch die Steigerung der Körpertemperatur und nicht durch den Bluterguss gebildet worden war. Dem ist zunächst zu entgegnen, dass in derartigen Fällen das Urobilin durchaus nicht in so grossen Mengen im Harne auftritt und der Harn in Folge dessen nie die beobachtete dunkle, kaffeebraune Färbung annimmt; im Ferneren stieg die Körpertemperatur im ersten Falle nur ein Mal auf 38.5, und erst an den vier folgenden Tagen traten Urobilinurie und Ikterus auf, während die Temperatur sich innerhalb normaler Grenzen hielt. Im zweiten Falle bemerken wir während der ganzen Zeit der Urobilinurie Temperaturen, die die Norm überschreiten, es wäre daher dieser Fall gegen die Erklärung der Entstehung der Urobilinurie in Folge von Fieber nicht beweiskräftig, wenn nicht nach Aufhören der Ausscheidung des Urobilins die Steigerung der Körpertemperatur noch angedauert hätte; das Nämliche ist bei der dritten Erkrankung der Fall, aber auch hier sehen wir im Laufe der Krankheit gerade zur Zeit vor der Incision, wo die Temperatursteigerung ihr Maximum erreichte (39.6, 40.1), das Urobilin nur in normalen Mengen im Harne auftreten. Es ist nun kaum denkbar, dass, wenn man die Temperatursteigerung als ursächliches Moment der Urobilinurie ansehen wollte, zu einer gewissen Zeit Urobilin im Harne auftritt, während dasselbe einige Tage nachher bei noch höherem Fiebergrade, statt, wie zu erwarten steht, vermehrt zu werden, im Gegentheile ganz verschwindet.

Gerade der dritte Fall ist für die Entstehung der Urobilinurie aus zu Grunde gegangenem Blute der instructivste, weil durch Punction und Incision die Flüssigkeit entleert und deren Beschaffenheit untersucht werden konnte. Es geht aus der Krankengeschichte hervor, dass vor der ersten Punction einige Zeit Urobilin im Harne vorhanden war, dieses verschwand aber nach einigen Tagen, weil durch die Ausscheidung das den Harnfarbstoff liefernde Material aufgebraucht wurde. Erst am 12. October, nachdem am 8. zur Zeit der wieder eintretenden Menses eine erneute Blutung in den Sack mit Vergrösserung desselben eingetreten war, tritt das Urobilin wiederum im Harne in abnorm grossen Mengen auf. Nach zweiter Punction und daheriger Abführung des das Urobilin liefernden Materials nimmt die Menge des ersteren rasch ab, es wird eben nur noch das im ganzen Körper abgelagert gewesene Urobilin ausgeschieden und verschwindet am vierten Tage nachher bis aufs Normale. Durch Vereiterung des zurückbleibenden Restes im Hämatocelensacke vergrössert sich der Tumor sehr rasch, so dass sieben Tage nach der zweiten Punction eine Incision und Entleerung des Sackes vorgenommen wird; dass es sich bei der erneuten Vergrösserung des Sackes nicht um eine neue Blutung handelte, geht aus dem entleerten Inhalte hervor; derselbe enthielt viel mehr Eiterzellen, Detritus und keine frische rothe Blutkörperchen; zugleich war gegenüber der bei der zweiten

Punction entleerten Flüssigkeit das krystallisirte Hämatoidin gänzlich verschwunden und die Menge des kugeligen bedeutend vermindert; es war dasselbe also unterdessen verändert worden.

Auf den letzten Punkt, auf die Anwesenheit von Hämatoidinkrystallen, als Uebergangsstadium von Blutfarbstoff in Urobilin, machte schon Kunkel aufmerksam, und ist deren Anwesenheit ein Beweis mehr, dass in unseren Fällen die Urobilinurie auf Blutergüsse zurückzuführen sei.

Was das Zeitintervall anbetrifft zwischen stattgehabter Blutextravasation und dem Auftreten von Urobilin im Harne, so war dasselbe für den ersten Fall zwei Tage, für den zweiten Fall sieben Tage und für den dritten Fall vier Tage; der Urobilinikterus wird gewöhnlich erst einen Tag später bemerkbar, als das Urobilin im Harne.

Es schwankt also das Auftreten des Urobilins im Harne zwischen zwei bis sieben Tagen; worauf diese allerdings ziemlich grosse Verschiedenheit beruht, ist aus diesen Fällen noch nicht ersichtlich.

Wie es scheint, hat eine Abkapselung des Extravasates keinen Einfluss auf die Bildung des Urobilins und eine allfällige Verlangsamung der Resorption und Ausscheidung desselben, obschon dies eigentlich zu erwarten wäre, da a priori die Resorptionsvorgänge in der freien Abdominalhöhle rascher vor sich gehen sollten, als in einer abgekapselten Höhle. Wenn man aber bedenkt, dass auch bei einem abgekapselten Extravasate der grösste Theil des Sackes von Peritonealflächen (Ligamentum latum, Därme) gebildet wird, die einfach durch Exsudatmassen gegen einander verklebt werden, so begreift man auch hier die rasche Resorptionsfähigkeit.

Die Dauer der Ausscheidung des Urobilins betrug im ersten Falle vier Tage, im zweiten Falle sieben Tage, im dritten Falle zum ersten Male mindestens sieben Tage, da ich Patientin nicht von Anfang der Erkrankung an sah, zum zweiten Male, wo durch Punction des Sackes die Urobilinbildung frühzeitig gestört wurde, waren nur drei Tage lang erhebliche Mengen des Farbstoffes im Harne nachweisbar; doch fanden sich noch drei weitere Tage lang geringere Quantitäten desselben vor.

Die Menge und Dauer der Ausscheidung des Urobilins ist jedenfalls proportional der Quantität des ausgetretenen Blutes, was auch aus dem zweiten Falle hervorzugehen scheint, bei welchem durch zweimalige Blutung die Menge des extravasirten Blutes jedenfalls eine ganz erhebliche war, indem in diesem Falle die Ausscheidung sieben Tage lang dauerte.

Für den constant zu beobachtenden Ikterus gilt das Nämliche, es ist die Intensität desselben proportional der Grösse des Blutextravasates. Was diesen letzten Punkt anbetrifft, so muss ich hier entschieden der Angabe von Quincke entgegentreten, dass die „Aufstellung eines Urobilinikterus unhaltbar sei und dass die so bezeichneten Fälle nichts anderes als geringe Grade eines Gallenikterus seien“. Dies mag vielleicht Geltung haben für Fälle, bei denen es sich um hepatogenen Icterus handelt und bei denen in späteren Stadien durch Reabsorption des in den Geweben abgelagert gewesenen Gallenfarbstoffes und durch Reduction desselben Urobilin im Harne erscheint; in allen den von mir beschriebenen Fällen handelt es sich um Urobilinikterus, der nachgewiesener Maassen entstanden

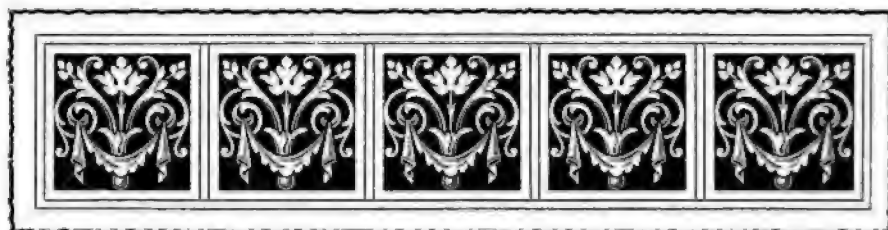
ist durch Erguss von Blut in die Bauchhöhle und wo jede Affection der Leber ausgeschlossen werden konnte; auch enthielt der zu derselben Zeit gelassene Urin weder Gallenfarbstoff noch Gallensäuren. Es muss daher jedenfalls für derartige Fälle die Bezeichnung Urobilinikterus beibehalten werden.

Dass abgekapselte Hämatocelen, bei denen ja äusserst selten so erhebliche Mengen Blut in die Abdominalhöhle austreten, dass die Zeichen einer acuten Anämie eintreten, in Heilung übergehen, ist erfahrungsgemäss der gewöhnliche Ausgang; dass aber freie Blutergüsse, und zwar solche erheblicher Art vom Organismus, wenn einmal die Gefahr der acuten Anämie vorüber ist, so gut und fast ohne Reaction ertragen werden, ist auffällig. Im ersten Falle trat ja nur eine einmalige Temperatursteigerung auf 38.5 ein. Versuche, so namentlich die von Cordua, haben auch an Thieren die nämlichen Thatsachen dargethan; von 15 Hunden, denen ganzes Blut in die Bauchhöhle injicirt wurde, ging nicht ein einziger zu Grunde; selbst 40 bis 50 pro Mille des Körpergewichtes verursachten keine wesentlichen Störungen der Functionen.

Es folgert daraus für die Therapie derartiger Fälle, bei denen es sich um Extrauterinschwangerschaften in den ersten Wochen handelt, dass ein zu actives Einschreiten, z. B. die Laparatomie behufs Entfernung des Eies und des extravasirten Blutes, nur der ausnahmsweise Behandlungsmodus sein dürfte, da dieselbe jedenfalls mehr Gefahren bringen kann, als ein exspectatives Verfahren; etwas anderes ist es natürlich in späteren Monaten der Gravidität, wo die Frucht als zu entfernender Fremdkörper und Entzündungserreger wesentlich ins Gewicht fällt.

Man mag mir nun einwenden, dass die Vermehrung der diagnostischen Hülfsmittel bei Blutergüssen in gynäkologischen Fällen durch die Berücksichtigung des Auftretens von Urobilin im Harne in der praktischen Verwendung auf Umständlichkeiten stösst. Ich gebe dies theilweise zu, da ja nicht einem Jeden ein Spectroskop zur Verfügung steht. Die chemische Probe, die ich oben angegeben habe, ist aber leicht auszuführen, und ist sicher und gehört heut zu Tage denn doch ein Spectroskop zu den ziemlich verbreiteten physikalischen Instrumenten, so dass viele sich daraus werden Nutzen ziehen können. Die Farbe des Urins allein ist bei Anwesenheit von grösseren Mengen von Urobulin so auffällig, das schon daraus mit grosser Sicherheit ein Schluss gezogen werden kann.

Es wird sich auch für gynäkologische Fälle die Verwerthung der Urobilinurie noch weiter ausdehnen lassen; ich erinnere nur an extraperitoneale Blutergüsse in das Beckenzellgewebe, das Ligamentum latum, die Umgebung der Vagina u. s. w.

Sollte es mir gelungen sein, durch diese meine Beobachtungen und daran geknüpften Reflexionen das Interesse der Fachgenossen für den Gegenstand geweckt zu haben, so ist mein Zweck damit erreicht.

# 1884

## Die Anaërobiosefrage

von

**Br. Lachowicz** und **M. Nencki.**

Pflüger's Archiv f. d. ges. Physiologie 33, 1.

Nachdem der Eine von uns durch die im 19. Bande Seite 337 des Journals für praktische Chemie (siehe diesen Band S. 436) beschriebenen, verschiedenartig modificirten Versuche sich von der Lebensfähigkeit der Spaltpilze bei fehlendem Sauerstoff überzeugt hatte, erwartete er, dass auch der Gegner dieser Ansicht — Herr Professor Gunning in Amsterdam — die Möglichkeit des Lebens ohne freien Sauerstoff anerkennen werde. In einer kürzlich darauf erschienenen Entgegnung erklärte jedoch Gunning [1]), dass er noch immer auf seiner Meinung beharre, weil er in den meisten von Nencki construirten Apparaten mittelst des von ihm auf Sauerstoff angegebenen Reagens — Bläuung mit Ferrocyankalium getränkter Papierstreifen durch Eisenoxydullösung — das Vorhandensein von Sauerstoff nachweisen konnte. Da es uns aus den früheren Versuchen bekannt war, dass Auskochen der Nährlösung im Wasserstoffstrome hinreichend ist, um allen Sauerstoff aus der letzteren zu entfernen, derart, dass mit der Nährlösung communicirende alkalische Pyrogallollösung gar nicht gebräunt wird, so haben wir jetzt an dem Principe — den Sauerstoff durch Auskochen zu entfernen — festhaltend, als Prüfstein für die Möglichkeit der Sauerstoffentfernung das Gunning'sche Reagens selbst angewendet. Aus doppeltem Grunde schien es uns geboten, das weisse Ferroferrocyanür ($Fe_2[FeCy_6]$) zum Nachweise der Sauerstoffabwesenheit in unseren Apparaten zu benutzen. Denn 1. wird von Gunning sein Reagens auf freien Sauerstoff als viel empfindlicher als die meist gebräuchlichen gerühmt, indem in Räumen, in welchen Phosphor nicht mehr leuchtet, mittelst des ersteren noch Sauerstoff nachgewiesen werden konnte, und 2. war zu erwarten, dass, falls mittelst des Ferroferrocyanürs keine Spur von Sauerstoff in unseren Appa-

---

[1]) Journ. f. prakt. Chem. 19, 434.

raten sich nachweisen liess, auch das letzte Bedenken gegen die Möglichkeit der Anaërobiose entkräftet sein wird.

Nach mehreren Vorversuchen, in welchen wir zunächst die Schwierigkeit, vollkommen eisenoxydfreie Reagentien und Gefässe zu erhalten, kennen lernten, haben wir unseren Zweck mittelst folgender Versuchsanordnung erreicht.

Der Apparat besteht aus drei einzelnen Kolben *A*, *B*, *C*, welche später bei *d* und *d* zusammengeschmolzen werden. *A* und *C* sind von gleicher Grösse und beiläufig gesagt von 250 ccm Inhalt. Der mittlere Kolben *B* ist kleiner, etwa von 50 ccm Inhalt. In *A* wird Wasserstoff entwickelt aus Eisen und verdünnter Schwefelsäure und so gleichzeitig auch eisenoxydfreies, schwefelsaures Eisenoxydulsalz erzeugt. Deshalb werden in *A* noch vor dem Einschmelzen des Trichterröhrchens *a* mehrere Eisenrollen aus nicht zu dünnem Clavierdraht hineingethan. In *B* befinden sich etwa 10 ccm Blutlaugensalzlösung und in *C* die Nährlösung für die zu cultivirenden Pilze. Die Verbindung der einzelnen Theile des Apparates ist aus der Zeichnung ersichtlich. (Siehe Fig. 14.)

Fig. 14.

Die einzelnen Kolben müssen zunächst mit der grössten Sorgfalt gereinigt werden, in der Weise, dass sie Anfangs mit Alkalien, hierauf mit eisenoxydfreier, verdünnter Schwefelsäure, sodann mit destillirtem Wasser längere Zeit ausgespült werden. Da es zweckmässig ist, sofort nach der Reinigung die Kolben zusammenzuschmelzen, muss darauf Bedacht genommen werden, dass die nassen Verbindungsröhrchen mit eisenfreiem Löschpapier getrocknet werden. Nebst der Reinigung des Apparates ist auch bei der Beschickung auf einige Cautelen Rücksicht zu nehmen. Nachdem die Kolben bei *d* und *d* zusammengeschmolzen sind, wird der Kolben *A* zu etwa $^2/_3$ mit destillirtem Wasser gefüllt, mit einigen Tropfen concentrirter Schwefelsäure angesäuert und zum Kochen erhitzt. Während des Siedens hat man durch Schrägstellung des Apparates Sorge zu tragen, dass die im Verbindungsröhrchen zwischen *A* und *B* condensirten Dämpfe in den Kolben *A* zurückfliessen. Es kann sonst leicht geschehen, dass mit den Wasserdämpfen einzelne Eisenoxydtheilchen in das Kölbchen *B* mit hineingerissen werden. Hat das Wasser einige Minuten gekocht, so lässt man es auf 60 bis 50° erkalten und giesst durch das Trichterröhrchen *a* von Zeit zu Zeit in kleinen Portionen gut ausgekochte, etwa 30- bis 40 proc. Schwefelsäure ein, wodurch ein gleichmässiger, rascher und viele Stunden andauernder Strom von Wasserstoffgas erzeugt wird. Jetzt werden einige frisch auskrystallisirte Krystalle von Ferrocyankalium in ausgekochtem Wasser gelöst und einige Cubikcentimeter davon durch das Trichterröhrchen in das Kölbchen *B* hineingegossen. Während Wasserstoff etwa eine Viertelstunde lang durch die Ferrocyankaliumlösung streicht, wird der Kolben *C* mit der Nährlösung zu etwa $^2/_3$ des Inhalts gefüllt und sodann das Kölbchen *B* bei *b* zugeschmolzen. Jetzt wird die

Flüssigkeit in dem Kolben *C* 10 bis 15 Minuten lang im Sieden erhalten, hierauf die Flamme entfernt und noch, während die Flüssigkeit kocht, das Ableitungsrohr *e* mittelst des in dem Gefässe *E* befindlichen Quecksilbers abgesperrt. Das Quecksilber in *E* ist mit einer Schicht von alkalischer Pyrogallollösung bedeckt, welche wiederum, um vor atmosphärischem Sauerstoff geschützt zu sein, mit Olivenöl, ätherischem Oel, einem aromatischen Kohlenwasserstoffe, oder ähnlicher in Wasser unlöslicher Flüssigkeiten überschichtet wird. Jetzt wird das Trichterröhrchen *c* mit einem Wachspfropfen verschlossen, wodurch das Wasserstoffgas nur durch den Quecksilberverschluss entweichen kann. Ist die Nährlösung *C* auf etwa 30° abgekühlt, so lüftet man den Wachspfropfen, giesst einige Tropfen (zwei bis fünf) der Hefe oder bacterienhaltigen Flüssigkeit hinzu, trocknet den Hals bei *c* mit Löschpapier und schmilzt zu. Schliesslich bringt man in das Eingussröhrchen (*a*) etwas Eisendraht, um auch das Röhrchen mit Wasserstoffgas zu füllen und schmilzt bei *a* zu.

Auf diese Weise geschieht die ganze Beschickung des Apparates im Wasserstoffstrome und die Entwickelung des Gases dauert noch einige Stunden, nachdem alle Eingussröhrchen zugeschmolzen sind. Durch Neigung des Apparates wird dann etwas von der Eisenoxydullösung aus *A* in *B* hineingegossen. Der jetzt entstandene Niederschlag von Ferroferrocyanür ($Fe_2[FeCy_6]$) ist vollkommen weiss und ändert auch nach längerem Stehen seine Farbe nicht.

Wie haben mittelst des so construirten Apparates unsere Erwartung bestätigen können, dass in Räumen, wo das Ferroferrocyanür auch wochenlang vollkommen weiss bleibt, Fäulniss und alkoholische Gährung mit gleichzeitigem Wachsthum und Vermehrung der resp. Pilze stattfinden. Wir wollen die angestellten Versuche einzeln beschreiben.

Am 4. April 1883 wurde in dem oben beschriebenen Apparate ein solcher Versuch ausgeführt. In dem Kolben *C* befand sich 3 proc. Gelatinelösung und nachdem sie im raschen Wasserstoffstrome auf die Bruttemperatur abgekühlt war, wurde sie mit vier Tropfen des durch Auspressen eines Ochsenpankreas erhaltenen Drüsensaftes inficirt. Durch Neigen des Kolbens *A* wurde sodann das Ferrocyankalium mit Eisenoxydulsulfat vermischt. Der entstandene Niederschlag war schneeweiss. Jetzt wurde der Kolben mit der Gelatinelösung in einem Wasserbade, dessen Temperatur mittelst eines Thermoregulators auf 38° eingestellt war, gebracht. Die Wasserstoffentwickelung dauerte noch mehrere Stunden. Am dritten Tage ward die bis dahin noch klare Gelatinelösung deutlich trübe. Am 8. April setzte sich am Boden ein Niederschlag ab, der sich in den folgenden Tagen merklich vermehrte und der, wie die spätere Untersuchung zeigte, nur aus neu gebildeten Spaltpilzen bestand. Während der ganzen Zeit blieb der Niederschlag von Ferroferrocyanür vollkommen weiss. Am 11. April, als der aus Bacterien bestehende Bodensatz sich nicht merklich zu vermehren schien, wurde der Apparat aus einander genommen. Der Inhalt des Kolbens *C* roch faulig, jedoch nicht nach Indol, ähnlich wie die an der Luft gefaulten Lösungen reiner Gelatine. Mit Salzsäure angesäuert, entwickelte er reichlich Kohlensäure. Der Bodensatz des Kolbens bestand vorwiegend aus Coccen, dann Köpfchenbacterien und wenigen in Theilung begriffenen

Stäbchen. Durch Erhitzen der Nährlösung mit Salzsäure wurden die Spaltpilze zu Flocken zusammengeballt, so dass sie sich gut abfiltriren und auswaschen liessen. Für 7 g der gelösten Gelatine erhielten wir 0.0998 g bei 110 getrockneter Bacterien = 0.602 g frischer Bacterien mit 83.42 Proc.[1] $H_2O$.

Am 14. April wurde der gleiche Versuch wiederholt. Als Nährsubstanz diente jetzt wieder 5 proc. Gelatinelösung, welche mit sieben Tropfen frischen Pankreassaftes inficirt war. Eine Stunde nach Zuschmelzen des Trichterröhrchens *c* wurde das Eisenoxydulsulfat mit Ferrocyankalium vermischt und der entstandene Niederschlag blieb während der ganzen Versuchsdauer vollkommen weiss. Am 28. April, also nach 14 Tagen, wurde der Versuch unterbrochen. Die verfaulte, widerlich riechende Flüssigkeit wurde jetzt mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, wobei sie stark aufbrauste und so lange destillirt, bis im Destillate keine flüchtige Fettsäure nachweisbar war. Die Säuremenge als Essigsäure berechnet betrug hier 29.00 Proc. von dem Gewichte der aufgelösten Gelatine.

Am 9. April wurde ein eben solcher Apparat aufgestellt. In dem Kolben *C* befand sich als Nährlösung jetzt frische Bierwürze, welche nach dem Auskochen und Abkühlen im Wasserstoffstrom mit fünf Tropfen eines Bodensatzes von eben vergohrener Bierwürze — also mit frischer und junger Hefe — inficirt wurde. Der Kolben *C* befand sich im auf 20 bis 25° temperirten Wasserbade. Der durch Vermischen von Eisensulfat mit Ferrocyankalium entstandene Niederschlag war und blieb auch hier schneeweiss. Schon nach 18 Stunden konnte man in dem Kolben *C* einzelne Gasblasen emporsteigen sehen und die Hefe setzte sich am Boden des Kolbens ab. Am 11. und 12. war die Flüssigkeit trübe und befand sich in starker Gährung. Es lagerten sich viel grössere Mengen Hefe nach und nach am Boden des Gefässes ab und Kohlensäure entwich durch das Ableitungsrohr *e*. Hernach klärte sich die Flüssigkeit allmählich und wurde am 15. vollkommen klar. Am 16. wurde der Apparat aus einander genommen, die gebildete Hefe abfiltrirt, gewaschen, bei 110° getrocknet und gewogen. Für 78 ccm der angewandten Bierwürze erhielten wir 0.0954 g Hefe = 0.5613 g frischer Hefe mit 83 Proc. $H_2O$.

Am 24. Mai wurde der Versuch mit Bierwürze wiederholt, welche jetzt mit drei Tropfen frischer Bierhefe inficirt war. Zwei Stunden nach Zuschmelzen des Röhrchens *c* wurde die Eisenlösung mit Ferrocyankalium vermischt und auch hier blieb der entstandene Niederschlag während des ganzen Versuches vollkommen weiss. Am folgenden Tage stellte sich die Gährung ein, die jedoch nicht so heftig zu sein schien, wie im vorigen Versuche. Nach drei Tagen klärte sich das Bier und am 30. Mai wurde der Apparat aus einander genommen. Die Flüssigkeit enthielt 2.8 Vol.-Proc. Alkohol. Die gleiche Würze aber an der Luft vergährt enthielt nur 2.2 Vol.-Proc. Alkohol.

Aus diesen Versuchen geht zunächst so viel hervor, dass durch das Auskochen der Flüssigkeiten und Durchleiten von Wasserstoffgas derart sauerstofffreie Räume hergestellt werden können, dass in ihnen weisses Ferroferrocyanür nicht gebläut wird,

---

[1]) Vgl. die chemische Zusammensetzung der Fäulnissbacterien von M. Nencki und F. Schaffer. Journ. f. prakt. Chemie (2), **20** 453. — Dieser Band S. 483.

und sodann, dass in solchen Räumen Fäulniss und alkoholische Gährung ähnlich wie in der Luft ablaufen kann. Wir haben bei diesen Versuchen eine dritte Wahrnehmung gemacht, nämlich die, dass die Herstellung absolut oxydfreier Oxydullösung, sowie die Entfernung jeder Spur Eisenoxyds aus den Apparaten recht schwierig ist. Wir haben absichtlich zu dem Ferrocyankalium weder Alkalibisulfit noch irgend ein anderes Reductionsmittel zugesetzt, da Spuren in dem Apparate vorhandenen Sauerstoffs von dem überschüssigen Reductionsmittel absorbirt werden könnten, und so die Blaufärbung des weissen Ferroferrocyanürs verhindern. Gunning[1]) hat übrigens selbst gesehen, als er Wasserstoff längere Zeit durch ein Glasrohr, welches an zwei Stellen nach unten etwas angeblasen war und hier die beiden Flüssigkeiten enthielt, deren Mischung den weissen Niederschlag giebt, hindurchleitete, dass das Präcipitat vollkommen weiss war. Er vermuthet aber, denn bewiesen hat er es nicht, dass in diesem Falle sich hydratisches Schwefeleisen (!) gebildet habe, welches in saurer Flüssigkeit die blaue Verbindung reducirte. Wie die saure Eisenoxydulsulfatlösung hydratisches Schwefeleisen enthalten könnte, ist uns unverständlich. Das wasserhaltige Sesquisulfit, $2\,(Fe_2S_3)\,3\,H_2O$, wird von verdünnten Säuren unter Abscheidung von Schwefel gelöst. Unsere Eisensulfatlösung könnte demnach ein solches reducirendes Schwefeleisen nicht enthalten. Beim Auflösen des von uns verwendeten Clavierdrahtes in Schwefelsäure wurden stets geringe Mengen Kohle abgeschieden und ausserdem roch das entweichende Wasserstoffgas etwas nach Arsenwasserstoff. Anfänglich, wo wir den Kolben *A* etwa nur halb so gross und folglich auch bedeutend weniger Eisen nahmen, ereignete es sich wiederholt, dass die Wasserstoffentwickelung gegen das Ende des Versuches schwächer wurde und dann nach dem Zuschmelzen des Apparates bei *c*, *b* und *a* und Vermischen der Eisensulfatlösung mit Ferrocyankalium der Niederschlag sich bläulich färbte und die Farbe an Intensität in den nächsten Stunden merklich zunahm.

Die Lebensfähigkeit der Spaltpilze ohne Sauerstoff lässt sich auch durch folgenden einfachen und leicht ausführbaren Versuch demonstriren. Er basirt auf den Thatsachen, dass 1. Blutfarbstofflösungen in sauerstofffreien Räumen ihren Sauerstoff verlieren, indem das Oxyhämoglobin in Hämoglobin übergeht, und 2. dass in abgeschlossenen Räumen durch Fäulnissbacterien sehr rasch aller Sauerstoff absorbirt wird. Die Versuchsanordnung war folgende: Der Apparat besteht aus zwei Kolben (*A*) und (*B*) (s. Fig. 15), welche zuerst beschickt und später bei *a* zusammengeschmolzen werden. Der kleinere Kolben (*A*) von etwa 150 ccm Inhalt wurde zuerst sorgfältig gereinigt, sodann über freier Flamme geglüht und mit einem Wattepfropfen verschlossen, nach dem Erkalten mit 100 ccm gut ausgekochter 5 proc. Gelatinelösung bis *b* gefüllt und mit Watte verschlossen erkalten gelassen. Während der Zeit wird der Kolben *B* von etwa 500 ccm

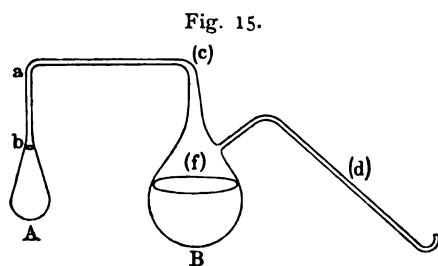



Fig. 15.

[1]) Journ. f. prakt. Chem. (2) **16**, 121.

Inhalt mit 10 proc. Gelatinelösung zu etwa $^3/_4$ gefüllt und mit etwas Pankreassaft versetzt. Man präparirt sich andererseits aus frischem Blute durch Gefrieren krystallisirtes Hämoglobin, löst etwas davon in ausgekochtem, wieder erkaltetem Wasser auf und filtrirt die Hämoglobinlösung in ein ausgeglühtes, während des Erkaltens mit Wattepfropf verschlossenes Reagensröhrchen. Jetzt wird die Flüssigkeit in *A* mit so viel der Oxyhämoglobinlösung gefärbt, dass sie namentlich an der Verjüngung oberhalb *b* deutlich die beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins zeigt. Nunmehr wird der Hals von *B* bei *c* umgebogen und die beiden Kolben *A* und *B* bei *a* zusammengeschmolzen.

Zwei so beschickte Apparate wurden in einem Wasserbade von constanter Temperatur von 38° aufgestellt, mit dem Unterschiede, dass, während bei dem einen die beiden Kolben in Wasser eintauchten, bei dem anderen nur der grössere (*B*) auf die Bruttemperatur erwärmt war, der kleinere (*A*) ausserhalb des Wasserbades sich befand. Die Ableitungsröhrchen *d* beider Apparate tauchten in Quecksilber ein. Bald darauf erstarrte die Gelatinelösung in dem nicht erwärmten kleineren Kölbchen und verblieb so bis zum Tage, an welchem auch dieses Kölbchen in das Wasserbad eingetaucht wurde, ein Beweis, dass der Inhalt nicht faulte.

Nach 48 Stunden konnte man starke Fäulniss in den mit Pankreas versetzten Gelatinelösungen sehen. Die Flüssigkeiten wurden trübe und auf ihrer Oberfläche entwickelte sich eine Bacterienhaut, die sich allmählich zu Boden der Kolben senkte. Ueber dem Quecksilber sah man reichlich Gasblasen entweichen. Der Inhalt der kleineren Kölbchen blieb vollkommen klar und noch nach 50 Stunden sah man spectroskopisch die beiden Streifen des Oxyhämoglobins. Am dritten Tage hat die Fäulniss etwas nachgelassen, doch dauert noch immer die Gasentwickelung fort. Der Inhalt des Kölbchens *A*, obgleich vollkommen klar, zeigt jetzt nur einen Streifen des reducirten Hämoglobins [1]). Am sechsten Tage der Fäulniss, an welchem die Flüssigkeit in den beiden Kölbchen noch ganz klar war und nur den Streifen des reducirten Hämoglobins zeigte, wurden die Ableitungsröhrchen unter Quecksilber mit einem Kautschukröhrchen überzogen und das letztere mittelst einer Péan'schen Sperrpincette, wie sie in der Chirurgie zur Gefässunterbindung gebräuchlich sind, geschlossen, wodurch etwas Quecksilber in das Ableitungsröhrchen gepresst wird. Nunmehr lässt man durch Neigen des Kolbens *B* einige Tropfen von der faulen Flüssigkeit in *A* hineinfliessen. Der Verschluss mittelst der Pincette und der Quecksilbersäule im Ableitungsröhrchen bieten völlige Garantie, dass während des Inficirens keine Spur Luft von aussen in den Raum zwischen *a* und *f* gelangen kann. Die in *A* nach der Infection eintretende Fäulniss geschieht also in einer ganz sauerstofffreien Flüssigkeit.

---

[1]) Nach den Bestimmungen Hoppe-Seyler's (Zeitschr. f. physiol. Chem. **1**, 124) zeigen verdünnte Hämoglobinlösungen mit Gasgemischen, welche nur 0.19 Vol.-Proc. Sauerstoff enthalten, geschüttelt noch die beiden Oxyhämoglobinstreifen. — Die Umwandlung des Oxyhämoglobins zu Hämoglobin konnte hier nicht etwa durch die geringe, in dem Kolben (*B*) entwickelte Menge Schwefelwasserstoffs geschehen, da sonst im Spectrum ausser dem Bande des reducirten Hämoglobins auch das des Schwefelwasserstoffhämoglobins sichtbar werden müsste.

Erst am dritten Tage wurden die Flüssigkeiten in den kleineren Kölbchen trübe. In den folgenden Tagen schritt die Fäulniss weiter fort, während sich ein grauer Bodensatz von Bacterien bildete und Gasblasen entwichen. Am vierten Tage nach der Infection wurde das aus einem der Kölbchen *A* während 48 Stunden entweichende Gas (im Ganzen 32 ccm) gesammelt. Das Gas bestand aus 93.5 Vol.-Proc. $CO_2$ und 0.5 Vol.-Proc. H. Am neunten Tage nach der Infection wurde der Versuch unterbrochen, der Inhalt der beiden Kölbchen *A* zusammengegossen und zunächst der Bodensatz mikroskopisch untersucht. Derselbe bestand aus lauter Spaltpilzen, der bemerkenswerther Weise nicht wie sonst bei Luftausschluss nur Coccen- und Köpfenbacterien, sondern ausser diesen auch zahlreiche in Theilung begriffene Individuen des Bacillus subtilis enthielt. Die faulig riechende Flüssigkeit wurde jetzt mit 20 ccm 30 proc. $SO_4H_2$ angesäuert und die flüchtigen Fettsäuren abdestillirt. Ihre Menge betrug auf Essigsäure bezogen 2.86 g = 28.6 Proc. von dem Gewichte der verfaulten Gelatine.

---

## Bemerkungen zu der vorstehenden Abhandlung

von

**M. Nencki.**

Pflüger's Archiv f. d. ges. Physiologie 33, 9.

Wir haben im Widerspruche zu den Angaben Gunning's in Räumen, in welchen Tage lang der weisse Niederschlag von Ferroferrocyanür weiss bleibt, sowohl Fäulniss, wie alkoholische Gährung anscheinend mit gleicher Intensität wie an der Luft verlaufen sehen. Wir sind gerne bereit, in Gegenwart von Prof. Gunning diese Versuche zu wiederholen und laden ihn dazu ein. Allerdings müssen wir nochmals betonen, dass die Fäulniss bei Luftzutritt oder Ausschluss nicht durchaus gleich verlaufen kann, da bei der Fäulniss der Proteïnsubstanzen bei Luftausschluss Producte gebildet werden, wie z. B. Glycocoll, flüchtige Fettsäuren u. dergl. m., welche erst bei Luftzutritt zu Kohlensäure und Wasser verbrannt werden[1].

Worin liegt aber die Ursache, dass Gunning andere Resultate als wir in seinen Versuchen erzielte? Dies genau anzugeben, sind wir natürlich nicht in der Lage. Dem schon früher von mir erhobenen Einwande, dass Fäulnissversuche in zugeschmolzenen Gefässen zur Entscheidung der Frage nach der Anaërobiose nicht zulässig sind, weil dabei die Fäulnissproducte nicht entweichen können, wurde von Gunning experimentell keine Rechnung getragen. Einen anderen gegen seine Versuche erhobenen Vorwurf, nämlich den, dass er seine Nährlösungen nicht mit bei Sauerstoffausschluss lebensfähigen Spaltpilzen inficirte, bezeichnet Gunning „als am wenigsten“ zutreffend. Ich glaube im Gegentheil, dass die Wahl der Infectionsorganismen und der Nährlösung für das Gelingen von Fermentationen bei Luft-

[1]) Journ. f. prakt. Chem. [2] **19**, 352. — Dieser Band S. 446.

ausschluss von der allergrössten Wichtigkeit ist. In allen unseren Versuchen mit Hefe und Pankreassaft haben wir uns immer durch gleichzeitige Controlversuche überzeugt, dass die gleiche Aussaat, welche zur Inficirung bei Luftausschluss diente, in der gleichen Nährlösung auch bei Luftzutritt alkoholische Gährung, resp. Fäulniss bewirkte.

Wenn Gunning glaubt, dass die von ihm im frischen (ungekochten) Zustande angewandten Substanzen keiner Infection bedurften, da sie ja die für die Fäulniss unter allen Umständen nöthigen Organismen oder deren Keime ausnahmslos in genügender Menge enthielten, so ist das eben nur ein Glaube, der nach meiner Ansicht sogar auf einem ungenügenden Wissen gegründet ist. Ich habe seit meinen ersten Publicationen über die Fäulniss [1]) den Standpunkt vertreten, dass die Keime der Spaltpilze von den Verdauungs- und Athmungswegen aus in die verschiedensten Organe des Thierkörpers gelangen und schon normaler Weise stets darin enthalten seien. Ich habe jedoch stets betont und durch seitherige Versuche mich wiederholt davon überzeugt, dass ihre Menge und Vertheilung in den Geweben sehr verschiedenartig und wechselnd ist. Während z. B. im Pankreas und in der Leber entwickelungsfähige Sporen der Bacterien immer in grossen Mengen enthalten sind, ist dies schon viel weniger der Fall im Muskel und noch weniger im Blute, und im letzteren können sie namentlich in den Transsudaten aus demselben, wie im Harn, serösen Flüssigkeiten u. dergl. m. auch gänzlich fehlen. Durch die Arbeiten Pasteur's wissen wir, dass Fermentorganismen, resp. ihre Sporen, auf der Oberfläche von Pflanzentheilen, wie Blätter, Stiele, Früchte u. s. w., vorkommen. Ob sie jedoch in dem inneren Parenchym gesunder Pflanzentheile enthalten sind, ist mir nicht bekannt.

Für jeden, der sich viel mit Gährungsversuchen beschäftigt, ist es eine fast alltägliche Beobachtung, dass eine anscheinend gute Aussaat und in guter Nährlösung keine oder nur schwache Gährung bewirkt. Uebermässige Sauerstoffzufuhr ist für die alkoholische Gährung direct schädlich. Als Hoppe-Seyler [2]) durch eine Rohrzuckerlösung, welche in 100 ccm 15 g Rohrzucker enthielt und mit 1 ccm Hefebrei versetzt war, Sauerstoff vier Tage lang hindurchleitete, wurden nur etwa 50 ccm von dem letzteren absorbirt. Der Rohrzucker war völlig invertirt, aber es wurden nur Spuren von Alkohol gebildet und das Gewicht des bei der Verdampfung des filtrirten Rückstandes in der Retorte bleibenden Syrups war noch etwas grösser als das Gewicht des zum Versuche benutzten Rohrzuckers. Nach den Versuchen Cochin's [3]) vermochte Hefe, welche während 24 Stunden bei 20° in dünner Schicht der Luft exponirt war, aus 100 Thln. Zucker nur 21 Thle. statt 50 Thle. Alkohol zu bilden. Nach 15tägigem Liegen von Hefebrei an der Luft in dünner Schicht, so dass das Wasser verdunstete und die trockene Hefe zurückblieb, bildete diese aus 100 Thln. Zucker nur 4 Thle. Alkohol, und das Unvermögen, Alkohol aus Zucker zu bilden, erhielt sich für mehrere Generationen der aus dieser Aussaat erhaltenen Hefezellen. Umgekehrt stirbt in ausgekochtem Wasser vertheilte und in einer enghalsigen Flasche mit Oelschicht bedeckte Hefe, so dass sie

[1]) Ber. **8**, 728. — Dieser Band S. 120.

[2]) Ueber die Einwirkung des Sauerstoffs auf Gährungen, S. 9, Strassburg 1882.

[3]) Compt. rend., **96**, 855, 1883.

ohne Nährlösung und ohne Sauerstoff verbleibt, ab und verliert die Fähigkeit, Zucker zu absorbiren, resp. Alkohol daraus zu bilden. Gunning gegenüber glaube ich erklären zu müssen, dass es mir allerdings sehr wahrscheinlich ist, dass es sowohl aërobe wie anaërobe Fäulnissorganismen giebt, von denen die ersten ähnlich wie die Schimmelpilze die organische Nährlösung direct zu Kohlensäure und Wasser verbrennen, die anderen aber (die anaëroben) fermentative Processe bewirken. Ich bin ferner aber auch der Ansicht, dass diese beiden Arten der Spaltpilze nicht unveränderlich sind, und je nach den Lebensbedingungen: wie Nährlösung, Luftzutritt, Temperatur u. dergl. mehr, nach kürzeren oder längeren Culturen, je nach der Species aus der anaëroben in die aërobe Form und umgekehrt, überführbar sind. Werden doch neuerdings von botanischer Seite die Hefezellen, die ja durch tausendfache Generationen hindurch in zuckerhaltigen Flüssigkeiten alkoholische Gährung bewirken und dabei ihre Form und Vermehrungsart nicht ändern, als Conidien der viel höher in der Entwickelung stehenden Brandpilze erklärt. In biologischer Hinsicht ist diese Auffassung Brefeld's [1]) von geringer Bedeutung, denn an der Thatsache, dass Leben und Vermehrung organischer Wesen auch bei völligem Sauerstoffausschluss möglich ist, wird dadurch nichts geändert; auch ist Brefeld den entscheidenden Beweis für seine Theorie, dass nämlich seine Conidienhefe in Zuckerlösungen alkoholische Gährung bewirkt, schuldig geblieben. Allerdings hat Gunning Recht, wenn er sagt, „dass die Erzeugung des oft erwähnten Niederschlages von Ferroferrocyanür in vollkommen weissem Zustande kein Beweis dafür sei, dass das Gas oder die Flüssigkeit, worin es sich gebildet hat, sauerstofffrei sei. Darüber kann überhaupt nicht mit Hülfe von Reagentien geurtheilt werden, denn eine Negation lasse sich mit Thatsachen nicht beweisen". Für die Beantwortung aber der Anaërobiosefrage sind die durch die von uns angewandten Reagentien nicht mehr nachweisbaren Mengen von Sauerstoff ganz bedeutungslos, wie dies eine einfache Berechnung ergiebt.

In unseren Versuchen, wo die Gelatinelösung mit Oxyhämoglobin gefärbt wurde, hatten wir für je ein Kölbchen höchstens 0.01 g Oxyhämoglobin gebraucht. Da 1 g Oxyhämoglobin bei der Reduction zu Hämoglobin 1.20 ccm = 0.00176 g Sauerstoff abgiebt und bei Gegenwart von Sauerstoff das reducirte Hämoglobin sofort in Oxyhämoglobin übergeht, so ergiebt es sich, dass die in dem Kölbchen *A*, Fig. 15, lebenden Bacterien jedenfalls weniger als 0.0000176 g freien Sauerstoff haben konnten. In unserem Versuche erhielten wir aus den beiden Kölbchen *A*, Fig. 15, aus 10 g Gelatine 2.86 g flüchtige Fettsäuren als Essigsäure berechnet. Die flüchtigen Fettsäuren entstehen bei der Fäulniss nicht durch einfache Hydratation, sondern durch Oxydation der Amidosäuren, wie z. B. nachgewiesenermaassen das Leucin [2]) durch die Fäulniss ähnlich wie durch die Kalischmelze unter Wasserstoffentwickelung zu Kohlensäure und valeriansaurem Ammon oxydirt wird. Nehmen wir an, es sei in unserem Versuche die flüchtige Fettsäure, welche vorwiegend Essig-

[1]) Brefeld, Botanische Untersuchungen über Hefepilze. 5. Heft. Die Brandpilze. Leipzig 1883.

[2]) Vgl. M. Nencki, Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas, S. 27, Bern 1876. — Dieser Band S. 204.

säure war, nicht aus einer kohlenstoffreicheren Amidosäure, sondern aus Alanin gemäss der Gleichung:

$$NH_2—CH_2—CH_2—CO_2H + O_2 = CH_3—CO_2—NH_4 + CO_2$$

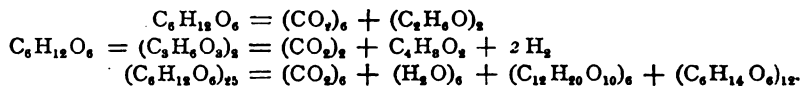
entstanden, so würden dazu etwa 1.1 g Sauerstoff nothwendig sein. Dazu kommt aber noch eine ganze Anzahl anderer, von uns nicht bestimmter, aus dem Leim entstandener Oxydationsproducte, sowie der Sauerstoffbedarf der neugewachsenen Bacterien selber. Das supponirte Maximum an freiem Sauerstoff in jedem der beiden Kölbchen ist aber bloss **0.0000176 g.**

In unseren Versuchen mit dem Apparate Fig. 14 erhielten wir aus unwägbarer Bacterienaussaat bei Luftausschluss nach sieben Tagen 0.602 g Bacterien und aus ebensolcher Hefeaussaat ebenfalls nach sieben Tagen 0.5613 g frischer Hefe. Nach den Bestimmungen von Regnault und Reiset bedarf es für ein Säugethier pro Kilo und Tag zur Athmung gegen 20 g Sauerstoff. Den niedrigsten Sauerstoffbedarf haben die Kaltblüter. Für Frösche bedarf es im Mittel pro Tag und 1 g Körpergewicht durchschnittlich 0.002 g Sauerstoff. Würde der Sauerstoffbedarf der Hefe oder Bacterien gleich dem der Kaltblüter gesetzt, so müsste für die aus unserer Aussaat gewachsene Menge pro Tag etwa 1.2 mg freier Sauerstoff zu Gebote stehen, eine Zahl, die nahezu um das 100 fache das angenommene Maximum in unseren Apparaten übersteigt. Selbstverständlich würde das Missverhältniss des zum Athmen nothwendigen, zu dem Maximum des disponiblen Sauerstoffs um das Tausendfache und mehr bei Anwendung grösserer Apparate und Culturen in grösserem Maassstabe anwachsen. Pasteur[1]) beschreibt einen Versuch, wo er aus unwägbarer Aussaat nach vollendeter Gährung 1.368 g bei 100° getrockneter Hefe erhielt; dabei wurden bei Ausschluss von Sauerstoff innerhalb 19 Tagen 145.4 g Zucker in Alkohol und Kohlensäure zersetzt. Durch Controlversuche überzeugte sich Pasteur, dass in der ursprünglichen Zuckerlösung nach dem Auskochen noch nicht ein Milligramm Sauerstoff gelöst war. Bei dem regen Stoffwechsel, den zahlreichen Oxydationsproducten und der Vermehrung der Pilze selber ist die Supposition, dass die Oxydation durch die Hefen- oder Bacterienzelle in unseren Apparaten mittelst des atmosphärischen Sauerstoffs geschah, einfach eine Absurdität.

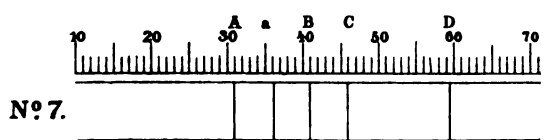
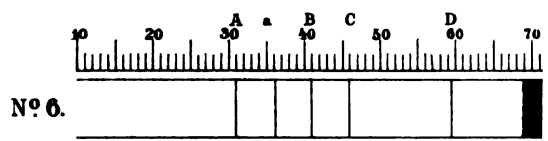
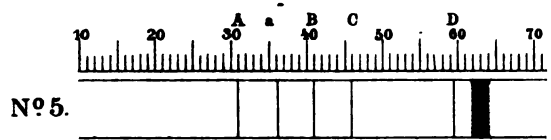
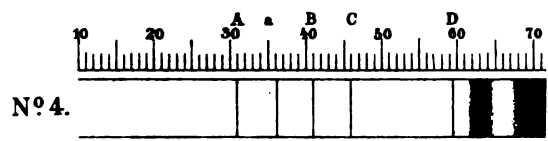
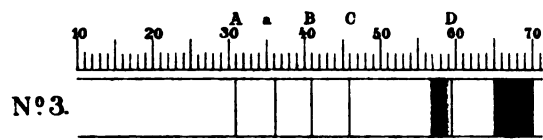
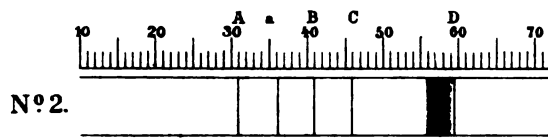
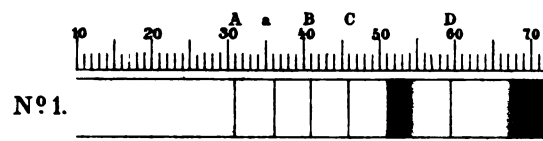
Das Leben der Thiere beruht auf dem Freiwerden von Spannkräften, sei es in Form von Wärme oder irgend einer anderen Art von Bewegung. Dies geschieht bekanntlich in lebendigen thierischen Zellen durch Oxydation complexer, kohlenstoffhaltiger Moleküle mittelst des atmosphärischen Sauerstoffs. Aber nicht alle lebendigen Zellen sind auf die Oxydation complexer Verbindungen durch den atmosphärischen Sauerstoff eingerichtet. Im Thierkörper wird der als Nahrung aufgenommene Zucker zu $CO_2$ und $H_2O$ nach der Gleichung $C_6H_{12}O_6 + O_{12} = (CO_2)_6 + (H_2O)_6$ oxydirt. Hefezellen, welche keinen atmosphärischen Sauerstoff aufnehmen, verbrennen ebenfalls den Zucker zu $CO_2$, aber durchaus nicht so vollständig wie die thierischen Zellen. Der Zucker wird hier nach der Gleichung $C_6H_{12}O_6 = (CO_2)_2 + (C_2H_6O)_2$ verbrannt. Nach gleichem Modus verläuft die

[1]) Etudes sur la bière, p. 232 u. 235.

Verbrennung der Glucose durch die anaëroben Spaltpilze bei der Buttersäuregährung oder bei der schleimigen Gährung, wie aus folgenden Gleichungen ersichtlich ist:

$$C_6H_{12}O_6 = (CO_2)_6 + (C_2H_6O)_2$$
$$C_6H_{12}O_6 = (C_3H_6O_3)_2 = (CO_2)_2 + C_4H_8O_2 + 2\,H_2$$
$$(C_6H_{12}O_6)_{25} = (CO_2)_6 + (H_2O)_6 + (C_{12}H_{20}O_{10})_6 + (C_6H_{14}O_6)_{12}.$$

Aehnlich wie die zuerst aus Zucker entstandene Milchsäure werden auch die Pflanzensäuren, wie die Citronensäure, Weinsäure, Aepfelsäure, Schleimsäure u. s. w., welche der sogenannten „Buttersäuregährung" fähig sind, bei fehlendem Sauerstoff durch die Spaltpilze zu $CO_2$ oxydirt, wobei andererseits Desoxydationsproducte wie Buttersäure und Wasserstoff entstehen. Die Zersetzung der Cellulose — die Cellulose-Wasserstoff- und die Cellulose-Grubengasgährung [1]) —, wo neben Kohlensäure diese beiden Gase, sodann Aethylaldehyd und flüchtige Fettsäuren auftreten; die Gährung des Glycerins, das einerseits in Kohlensäure, andererseits in eine ganze Reihe Reductionsproducte: wie Trimethylenglycol, Aethyl und Butylalkohol, Buttersäure, Capronsäure und Wasserstoff gespalten wird, sowie die Fäulniss der Proteïnsubstanzen, alle diese Gährungen gehören in die gleiche Kategorie.

Während also in thierischen Organismen, welche atmosphärischen Sauerstoff aufnehmen, die Oxydation der organischen Materie eine nahezu vollständige ist, sehen wir bei den Gährung bewirkenden Organismen, welche den Sauerstoff nicht aus der Luft, sondern aus der Nährsubstanz selbst entnehmen, dass neben der Kohlensäure stets Reductionsproducte auftreten. Die Oxydation bei der Anaërobiose ist nie eine vollständige, sie bleibt auf einer niedrigen Stufe und in diesem Sinne ist Gährung ein unvollkommenes Athmen. Was Berthelot als Kriterium dessen, dass die anaëroben Organismen nicht freien Sauerstoff, sondern an ein anderes Element gebundenen zur Oxydation verwenden, verlangt, nämlich, dass dabei sauerstoffärmere Verbindungen entstehen müssen, findet ja sowohl bei der alkoholischen als auch bei allen anderen oben angeführten Gährungen thatsächlich statt; denn der entstandene Aethylalkohol, welcher anderthalb mal soviel Wasserstoff und nur halb so viel Sauerstoff als Glycose im Molekül enthält, ist ein solches desoxydirtes Product. Es ist ein naives und Kurzsichtigkeit bezeugendes Verlangen, dass Berthelot [2]) erst dann sich von der Existenz der Anaërobiose als überzeugt erklären will, wenn bei der alkoholischen Gährung statt Kohlensäure Kohlenoxyd und statt Alkohol Aethylenhydrür auftreten würde. Bei vielen Gährungen findet ja übrigens Entwickelung von Wasserstoff oder Kohlenwasserstoffen statt, wie ja selbst aus Glucose durch nascirenden Wasserstoff nicht allein Mannit und Dulcit, sondern auch Alkohole, darunter Aethylalkohol entstehen. Diese interessante Beobachtung, welche Bouchardat [3]) in Berthelot's Laboratorium machte, hätte den Letzteren zu der Einsicht bringen sollen, dass die alkoholische Gährung auf Desoxydation beruht und aller Wahrscheinlichkeit nach sind die minimalen Mengen Alkohols in den von Berthelot mitgetheilten Versuchen, wo er gleichzeitig elek-

[1]) Vgl. Tappeiner, Ber. **16**, 1734.
[2]) Compt. rend. **87**, 950, 1878.
[3]) Ann. Chim. phys. (4), **27**, 68, 1872.

Nencki. Opera omnia.

trolytischen Wasserstoff und Sauerstoff auf Glucoselösung einwirken liess, durch Einwirkung des nascirenden Wasserstoffs auf Zucker entstanden.

Ausser der Desoxydation ist der zweite chemische Process bei den Gährungen die Hydratation, welche in der Regel der Desoxydation vorausgeht. Wie v. Rechenberg[1]) zeigte, sind auch diese hydrolytischen Zersetzungen bei den Gährungen stets von einer Wärmeentwickelung begleitet. Man könnte diese Hydratationen, namentlich da, wo sie mittelst der in den Gährungsorganismen gebildeten löslichen Fermente geschehen, mit der Verdauung der Thiere vergleichen, während die Entwickelung der Kohlensäure bei Gährungen unter gleichzeitiger Bildung von Desoxydationsproducten der Oxydation in den Geweben der Thiere entsprechen würde. Von den eigentlichen Gährungen, welche nach der Definition Pasteur's „Leben ohne freien Sauerstoff sind“, sind natürlich die durch die an der Luft lebenden Schimmel-, Spross- oder Spaltpilze bewirkten Zersetzungen organischer Substanzen — die sogenannten Gährungen durch Oxydation — verschieden.

---

# Untersuchungen über den Blutfarbstoff

von

**M. Nencki** u. **N. Sieber.**

## Die Darstellung und Zusammensetzung der Häminkrystalle und des Hämatins.

(Hierzu Tafel VII.)

Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. **18**, 401. Vorläufige Mittheilung in den Berichten **17**, 2267. — Diese Arbeit wurde auch in polnischer Sprache in der Zeitschrift „Gazeta Lekarska“ veröffentlicht.

Der wesentliche Bestandtheil der rothen Blutkörperchen ist das Hämoglobin, das zuerst von Reichert in krystallinischem Zustande beobachtet, später von C. Schmidt, Hoppe-Seyler und in der letzteren Zeit von Kossel, namentlich aber von Hüfner analysirt wurde. Aus der durch Elementaranalysen ermittelten procentischen Zusammensetzung, sowie aus der Menge des beim Uebergange des Hämoglobins in das Oxyhämoglobin aufgenommenen Sauerstoffs berechnet Preyer als die kleinste Formel für das Oxyhämoglobin des Hundes die Zahl: $C_{600} H_{960} N_{154} O_{179} S_3 Fe$, also das complexeste Molekül unter den bisher bekannten Verbindungen, deren Formel mit einiger Sicherheit festgestellt ist.

Dieses Riesenmolekül ist wenig beständig. Alkohol, verdünnte Säuren oder Alkalien, Metallsalze u. s. w. zersetzen die Hämoglobine der verschiedenen Thierspecies in nicht näher untersuchte Eiweissstoffe und einen Farbstoff von verhältnissmässig einfacher Zusammensetzung, wie weiter unten gezeigt wird, das Hämatin. Nach Hoppe-Seyler's Angaben entsteht bei dieser Zersetzung der Hämoglobine

[1]) Journ. f. prakt. Chem. (2), **22**, 226.

bei Ausschluss der Luft zuerst ein Farbstoff von sehr charakteristischen Absorptionsstreifen, von ihm Hämochromogen genannt, welcher erst unter Einwirkung des atmosphärischen Sauerstoffs, namentlich in alkalischer Lösung, rasch in Hämatin übergeht. Der eigentliche farbige Bestandtheil der Hämoglobine verschiedener Blutarten ist demnach das Hämatin und es ist speciell dieser Farbstoff der Gegenstand unserer im Nachfolgenden zu beschreibenden Untersuchung gewesen.

Obgleich das Hämatin als ein Spaltungsproduct der rothen Blutkörperchen seit lange den Chemikern [1]) bekannt und schon von Mulder analysirt war, so datiren genauere Untersuchungen desselben erst von der Zeit an, wo der gegenwärtige Professor der Anatomie in Krakau, L. Teichmann [2]), im Jahre 1853 durch Einwirkung von Eisessig und wenig Kochsalz auf Blut in der Wärme die Darstellung der Häminkrystalle entdeckte. Es wurde dadurch die Aussicht auf die Darstellung und Isolirung eines reinen Productes eröffnet. Nach der Richtung hin sind namentlich die Arbeiten von Hoppe-Seyler [3]) in der Geschichte des Hämatins hervorragend, obwohl, wie man sehen wird, auch von diesem Forscher die wahre Zusammensetzung der Häminkrystalle und des Hämatins nicht erkannt wurde.

Unter Benutzung der Erfahrungen von Teichmann, Gwosdew, Rollet, Wittich u. A. hat Hoppe-Seyler zuerst die Teichmann'schen Krystalle in grösseren Mengen dargestellt und analysirt. Er fand für das nicht umkrystallisirte Hämin folgende procentische Werthe:

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C = | 60.82 | 61.14 | 61.02 | — | — | — | — | — | — | — |
| H = | 5.51 | 5.49 | 5.57 | — | — | — | — | — | — | — |
| N = | — | — | — | — | 8.22 | — | — | — | — | — |
| Fe = | 8.40 | 8.47 | 8.73 | 8.37 | — | — | — | — | — | — |
| Cl = | — | — | — | — | — | 3.96 | 4.83 | 3.47 | 4.59 | 4.61 u. 5.18 |

und für das nach dem Verfahren von Gwosdew — Lösen der Krystalle in Alkohol, der über kohlensaurem Kali gestanden hat, Ausscheidung des Hämatins durch Wasser und Essigsäure und Behandeln des Niederschlages mit Eisessig und Kochsalz — umkrystallisirte Hämin:

| | | | |
|---|---|---|---|
| C = | 62.36 | 62.15 Proc. | |
| H = | 5.45 | 5.57 „ | |
| Fe = | 8.63 | 8.77 „ | |
| Cl = | — | — „ | 3.78 |

Wenn auch die analysirten Präparate in ihrem Chlorgehalte wenig Uebereinstimmung zeigen, so betrachtet doch Hoppe-Seyler, gestützt auf die Analysen des freien Hämatins, für welches er die Formel $C_{34}H_{34}N_4FeO_5$ aufstellte, die Teichmann'schen Krystalle als das salzsaure Salz desselben und folglich als nach der Formel $C_{34}H_{34}N_4FeO_4HCl$ zusammengesetzt. Hoppe-Seyler sagt selbst, dass die von ihm analysirten Häminkrystalle nicht rein waren, und erklärt den von ihm gefundenen geringen Chlorgehalt damit, dass seine Präparate aus einem Gemenge

[1]) Die Literatur des Hämatins ist bei Preyer in seiner Monographie: „Die Blutkrystalle", Jena 1871, S. 239, zusammengestellt.

[2]) Zeitschr. f. rat. Med. N. F. **35**, 375; **8**, 141.

[3]) Med. chem. Untersuchungen. Berlin 1871 bis 1876.

von chlorfreiem Hämatin und chlorhaltigem Hämin bestanden. Wohl mit Unrecht! Denn in Präparaten mit nur 3.47 bis 4.83 Proc. Chlor müsste der Kohlenstoffgehalt um 1 bis 2 Proc. höher gefunden werden, als Hoppe-Seyler erhielt.

Gelegentlich unserer Versuche zur Isolirung des vor zwei Jahren von uns beschriebenen Farbstoffs — des Uroroseïns — aus dem Harne, sahen wir, wie vortrefflich sich der Amylalkohol zur Extraction der Farbstoffe aus thierischen Flüssigkeiten und Geweben eignet. Wir haben schon damals hervorgehoben, dass z. B. das Urobilin in jedem menschlichen, sogar in dem wasserhellen diabetischen Harne durch Extraction des angesäuerten Harnes mit Amylalkohol nachgewiesen werden kann. Seither haben wir bestätigen können, dass auch im Hunde-, Pferde-, Kaninchen- und Kuhharne normaler Weise Urobilin oder wenigstens die Leukoverbindung[1]) desselben enthalten ist. Die verschiedenen Darstellungsmethoden des Hämins und Hämatins[2]), auch die letzte von Cazeneuve[3]), liefern nur geringe Ausbeute und auch keineswegs ein reines Präparat. Wir haben deshalb versucht und zwar mit Erfolg, für die Isolirung des Hämatins aus dem Blute ebenfalls Amylalkohol anzuwenden. Wir unterlassen die Beschreibung der verschiedenen zu dem Zwecke angestellten Versuche und werden nur das als das zweckmässigste erprobte Verfahren angeben.

3 bis 4 Liter frischen, defibrinirten und durch Leinwand filtrirten Blutes werden in mehreren Porcellanschalen von 5 bis 6 Liter Inhalt mit flachem Boden (Schalen mit concaven Böden sind dazu nicht geeignet) mit dem neunfachen Volumen 4 proc. Kochsalzlösung vermischt und an einem ruhigen Orte 24 bis 28 Stunden stehen gelassen. In dieser Zeit haben sich die Blutkörperchen zu Boden gesenkt. Die darüberstehende Flüssigkeit wird abgegossen. Der dicke Blutkörperchenbrei mit einem Spatel oder Kartenblatt in ein grösseres Glas zusammengeschabt und mit so viel (etwa dem doppelten Volumen) 90 proc. Alkohol unter Umrühren vermischt, bis die Flüssigkeit zu einem Coagulum erstarrt. Nach 24 stündigem Stehen wird das Coagulum auf ein Filter gebracht, das abgelaufene und nur wenig gefärbte

---

[1]) Wir machten wiederholt die Beobachtung, dass der amylalkoholische Auszug des mit Salzsäure angesäuerten Kuh- oder Hundeharns, sofort spectroskopisch untersucht, keinen Absorptionsstreifen zeigte, dass dagegen nach mehrstündigem Stehen der amylalkoholischen Lösung an der Luft sich dieselbe dunkler färbte und auch das für das Urobilin charakteristische Band zwischen $b$ und $F$ im Spectrum sichtbar wurde. Es findet dabei Absorption des atmosphärischen Sauerstoffs statt, wie dies die zwei folgenden Bestimmungen ergeben. 1400 ccm Kuhharn wurden mit 110 ccm reiner Salzsäure angesäuert und sodann mit 120 ccm Amylalkohol ausgeschüttelt. 50 ccm dieses amylalkoholischen Auszuges liessen wir mit 31.47 ccm Sauerstoff auf 0° und 760 mm Bst. reducirt 45 Stunden lang bei der Bruttemperatur stehen. Während der Zeit wurden 2.97 ccm $O_2$ = 0.0042 g absorbirt.

In einem zweiten Versuche wurden 450 ccm Hundeharn mit 20 ccm reiner Salzsäure angesäuert und mit 150 ccm Amylalkohol ausgeschüttelt. 50 ccm der amylalkoholischen Lösung wurden in einem Kolben mit 230.3 ccm Luft auf 0° und 760 mm Bst. reducirt, 40 Stunden lang bei der Bruttemperatur digerirt. Während der Zeit absorbirten die 50 ccm der Lösung 1.67 ccm = 0.00239 g Sauerstoff.

[2]) Sie sind in der Monographie von Preyer zusammengestellt.

[3]) Thèse pour le Doctorat en Médicine par P. Cazeneuve. Paris 1876 und Bull. Soc. chim. **27**, 485.

Filtrat gesammelt, um hernach daraus den Alkohol wieder zu gewinnen und der Filterrückstand auf Fliesspapier zum Trocknen ausgebreitet. Es ist wichtig, dass das Blutpulver nicht zu sehr eintrocknet. Nach unseren Beobachtungen genügt dazu ein 24stündiges Liegen auf Fliesspapier. Ein solches feuchtes Blutpulver bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknet enthielt nur 34 bis 37 Proc. festen Rückstand. Man lernt übrigens bei wiederholter Darstellung sehr bald beurtheilen, wann das Blut für die weitere Bearbeitung hinreichend trocken ist.

Das Blutpulver wird nunmehr im Porcellanmörser fein zerrieben und in kleinen Partien zu je 400 g mit dem vierfachen Gewichte reinen Amylalkohols, Siedepunkt 130°, in einem Kolben auf dem Sandbade zum Kochen erhitzt. Sobald die Flüssigkeit ins Sieden geräth, wird sie mit 20 ccm reiner Salzsäure (spec. Gew. 1.12) versetzt und noch 7 bis 10 Minuten lang im Sieden erhalten. Die Temperatur der Flüssigkeit steigt nicht über 100°. Aus der heiss filtrirten, dunkelroth gefärbten Lösung krystallisirt das salzsaure Hämatin in kurzer Zeit aus; man lässt jedoch zweckmässig die Lösung 24 Stunden stehen, wonach die Krystalle zum kleinen Theil an den Wänden, hauptsächlich am Boden des Gefässes sich abgesetzt haben. Es ist dann nicht nöthig zu filtriren, sondern der Amylalkohol wird abgegossen und der am Boden befindliche Krystallbrei mit 90 proc. Aethylalkohol vermischt, hierauf auf ein Filter gebracht und jetzt so lange mit Aether gewaschen, bis das Filtrat nur schwach gelblich gefärbt erscheint. Jetzt wird der Krystallbrei mit viel absolutem Alkohol, hierauf mit Wasser so lange gewaschen, bis im Filtrate mit salpetersaurem Silber keine Trübung entsteht. Schliesslich wird der Krystallbrei in einem Becherglase von Neuem in Alkohol vertheilt, der Alkohol decantirt, der Bodensatz auf ein Filter gebracht und zunächst auf Fliesspapier, hierauf über $SO_4H_2$ bis zu constantem Gewichte getrocknet. Bei diesem Reinigen hat man namentlich durch das Waschen mit Alkohol ziemlich viel Verlust. Man erhält immerhin an reinem Producte 1.5 bis 3 g aus 3 Liter Blut. In der amylalkoholischen Lösung ist noch ziemlich viel Hämin enthalten, doch ist daraus kein reines Product mehr zu gewinnen. Bei gut gelungener Operation ist das Blutpulver fast vollständig entfärbt. Im anderen Falle kann der Rückstand auf dem Wasserbade getrocknet, fein pulverisirt, von Neuem mit Amylalkohol extrahirt werden. Den zum Auswaschen der Krystalle benutzten Alkohol und Aether haben wir abdestillirt und zum Fällen des Hämoglobins in einer neuen Portion der Blutkörperchen verwendet. Das salzsaure Hämin krystallisirt aus heisser amylalkoholischer Lösung in mannigfachen Formen des rhombischen Systems. Ist die Krystallisation sehr reichlich, so erscheint es an der Oberfläche der Mutterlauge in glitzernden Krystallhäuten, welche unter dem Mikroskop aus dünnen, leicht zerbrechlichen rhombischen Tafeln bestehen. Oefters erhielten wir es in Nadeln und wetzsteinartigen Formen, oder auch in concentrisch gruppirten rhombischen Prismen. Herr Stud. med. Carl Umbach hatte die Freundlichkeit, eine photographische Auf-

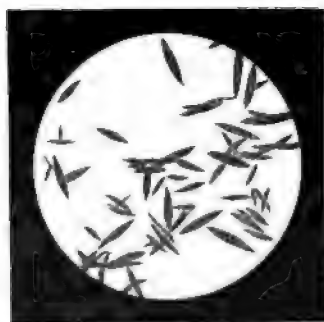
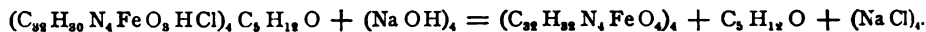



Fig. 16.

nahme der Krystalle zu machen, die in der Fig. 16 wiedergegeben ist. Das auskrystallisirte Hämin ist ganz rein. Man sieht bei Durchmusterung mikroskopischer Präparate ausser den Krystallen höchstens vereinzelte Kochsalzwürfel oder Tropfen von Amylalkohol, die nach Zusatz von Aethylalkohol verschwinden. Im trockenen Zustande erscheinen die Krystalle glänzend violettbraun, im durchfallenden Lichte braun. Wir haben nach diesem Verfahren aus Rinder-, Pferde-, Menschen-, Schweine- und Hundeblut salzsaures Hämin dargestellt und analysirt. Wie aus den mitzutheilenden analytischen Belegen ersichtlich, haben die Häminkrystalle aller dieser Blutarten die gleiche Zusammensetzung; auch in der Form, Löslichkeit und sonstigem Verhalten zeigen die Krystalle keine merkliche Verschiedenheit. Nur mit Rücksicht auf die Ausbeute sowie besser ausgebildete Krystallformen halten wir das Pferde- oder Rinderblut zur Darstellung des Hämins für besonders geeignet. Aus Schweine- oder Menschenblutkörperchen haben wir nie so viele und so schöne Krystalle erhalten, als wie aus den beiden obigen Blutarten. Da wir von dem Rinder-, Pferde- und Schweineblut auf einmal 3 bis 4 Liter auf Hämin verarbeiteten und so zwischen 2 bis 3 g reiner Krystalle erhielten, so konnten wir nicht allein das salzsaure Hämin analysiren, sondern auch einen Theil des analysirten Präparates durch Auflösen in verdünnter Natronlauge, Filtriren und Fällen des Filtrates mit Salzsäure in das Hämatin verwandeln. Auf die Weise konnten wir durch die Elementaranalyse die Aenderung in der Zusammensetzung des salzsauren Hämins beim Uebergange in das Hämatin verfolgen. Dieser Weg hat uns dann sehr bald zu der richtigen Erkenntniss der Zusammensetzung der nach unserer Methode bereiteten Häminkrystalle geführt. Die Krystalle enthalten nämlich stets einen constanten Gehalt an Amylalkohol, welcher weder durch noch so langes Auswaschen mit Alkohol oder Aether, noch durch Trocknen über $SO_4H_2$ oder bei 110° sich entfernen lässt. Selbst als die Häminkrystalle mit verdünnter Salzsäure auf dem Wasserbade digerirt wurden, blieb ihre Zusammensetzung unverändert. Erst beim Auflösen der Krystalle in verdünnter Natronlauge wird der Amylalkohol abgespalten und geht beim Destilliren der alkalischen Lösung in das Destillat über. So wurden beispielsweise 1.631 g reiner Häminkrystalle aus Rinderblut mit viel Aether, siedendem Alkohol und Wasser ausgewaschen, sodann drei Stunden lang bei 110° getrocknet und hierauf in einem Kölbchen mit wenig verdünnter Natronlauge destillirt. Die ersten 9 ccm des aufgefangenen Destillates enthielten den Amylalkohol als auf dem Wasser schwimmende ölige Tropfen, leicht kenntlich an seinem Geruche und sonstigen Eigenschaften. Durch Oxydation des Destillates mit Kalibichromat und Schwefelsäure wurde der Amylalkohol in Valeraldehyd und Valeriansäure übergeführt. Aus den Elementaranalysen geht hervor, dass die von uns erhaltenen Häminkrystalle nach der Formel: $(C_{32}H_{30}N_4FeO_3HCl)_4C_5H_{12}O$ zusammengesetzt sind. Wir hätten danach aus 1.63 g der Krystalle bei der Zersetzung mit Natronlauge nur 0.056 g Amylalkohol erhalten können, weshalb wir von der quantitativen Bestimmung der so geringen Menge an Alkohol, resp. daraus erhaltener Valeriansäure abstehen mussten. Die übereinstimmenden Analysen des aus den Häminkrystallen erhaltenen Hämatins ergeben für das letztere die Formel: $C_{32}H_{32}N_4FeO_4$. Bei der Auflösung der Krystalle in Alkalien wird demnach nicht allein Amylalkohol und Salzsäure abge-

spalten, sondern gleichzeitig auch Wasser in das Molekül aufgenommen, entsprechend der Gleichung:

$$(C_{32}H_{30}N_4FeO_3HCl)_4C_5H_{12}O + (NaOH)_4 = (C_{32}H_{32}N_4FeO_4)_4 + C_5H_{12}O + (NaCl)_4.$$

Wir werden den mit Chlorwasserstoff und Amylalkohol verbundenen Bestandtheil der Krystalle, dem den Analysen zufolge die Zusammensetzung: $C_{32}H_{30}N_4FeO_3$ zukommt, mit dem Namen Hämin bezeichnen, das als eine Art von Anhydrid des durch Einwirkung von Alkalien daraus entstehenden Farbstoffes, des Hämatins $= C_{32}H_{32}N_4FeO_4$, angesehen werden kann.

Indem wir jetzt die erhaltenen analytischen Resultate mittheilen, wollen wir noch bemerken, dass die Verbrennung der Krystalle theils im zugeschmolzenen Rohre mit chromsaurem Blei und vorgelegtem metallischen Kupfer, theils im offenen Rohre im Sauerstoffstrome mit Kupferoxyd und vorgelegter metallischer Kupfer- und Silberspirale ausgeführt wurden. Chlor und gleichzeitig auch Eisen wurden durch vierstündiges Erhitzen der Substanz auf 200° C. mit Salpetersäure und salpetersaurem Silber im zugeschmolzenen Rohre nach Carius bestimmt.

I. Salzsaures Hämin aus Rinderblut.

0.2454 g der bei 110° getrockneten Substanz, mit chromsaurem Blei verbrannt, gaben: 0.5645 g $CO_2$ und 0.1258 g $H_2O$ oder 62.73 Proc. C und 5.69 Proc. H.

0.2243 g der Substanz gaben 0.0287 g $Fe_2O_3$ oder 8.95 Proc. Fe,
0.3342 g „ „ „ 0.0715 g AgCl „ 5.29 „ Cl,
0.2029 g „ „ „ 16.5 ccm N-Gas bei 15° und 715 mm Bst. oder 8.99 Proc. N.

II. Salzsaures Hämin aus Menschenblut.

0.427 g der Substanz gaben 0.0902 g AgCl = 5.22 Proc. Cl und 0.0547 g $Fe_2O_3$ = 8.96 Proc. Fe.

III. Salzsaures Hämin aus Rinderblut.

Das Präparat wurde mit Aether und Alkohol gewaschen, hierauf mit salzsäurehaltigem Wasser längere Zeit auf dem Wasserbade digerirt, von Neuem mit Wasser ausgewaschen und bei 100° getrocknet.

0.2431 g Substanz gaben 0.5594 g $CO_2$ und 0.125 g $H_2O$ oder in Procenten: 62.75 Proc. C und 5.71 Proc. H.

0.6283 g Substanz gaben 0.1341 g AgCl oder 5.28 Proc. Cl und 0.0787 g $Fe_2O_3$ oder 8.72 Proc. Fe.

Ein anderer Theil dieses Präparates wurde in stark verdünnter Natronlauge gelöst, filtrirt, im Filtrate das Hämatin mit Salzsäure ausgefällt, der Niederschlag mit Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaction, hierauf mit Alkohol gewaschen, sodann bei 110° getrocknet und analysirt.

0.2512 g der Substanz im offenen Rohre im Sauerstoffstrom verbrannt gaben 0.5986 g $CO_2$, 0.1270 g $H_2O$ und 0.0336 g $Fe_2O_3$ oder 64.98 Proc. C, 5.61 Proc. H und 9.36 Proc. Fe.

0.2332 g der Substanz gaben 20.4 ccm N-Gas bei 20° und 715 mm Bst., entsprechend 9.40 Proc. N.

IV. Salzsaures Hämin aus Rinderblut.

0.2694 g der bei 105° getrockneten Substanz gaben 0.6205 g $CO_2$ und 0.1422 g $H_2O$ oder 62.81 Proc. C und 5.86 Proc. H.

0.5515 g des gleichen Präparates gaben 0.1112 g AgCl und 0.0679 g $Fe_2O_3$ oder 5.38 Proc. Cl und 8.61 Proc. Fe.

0.2277 g gaben 19.3 ccm N-Gas bei 20° und 716 mm Bst., entsprechend 9.13 Proc. N.

Der noch übrige Rest des Präparates = 1.080 g wurde mit Natronlauge destillirt und daraus Amylalkohol dargestellt.

V. Salzsaures Hämin aus Pferdeblut.

0.2673 g der Substanz gaben 0.6172 g $CO_2$ und 0.1440 g $H_2O$ oder 62.9 Proc. C und 5.98 Proc. H.

0.4674 g des gleichen Präparates gaben 0.1002 g AgCl und 0.0600 g $Fe_2O_3$, entsprechend 5.30 Proc. Cl und 8.97 Proc. Fe.

Ein anderer Theil des gleichen Präparates wurde in verdünnter Natronlauge gelöst, filtrirt und in dem Filtrate das Hämatin ausgefällt. Nach dem Auswaschen mit Wasser und Alkohol wurde das Präparat bei 110° getrocknet und ergab bei der Verbrennung folgende Zahlen:

0.2414 g der Substanz gaben 0.5753 g $CO_2$ und 0.1221 g $H_2O$ oder 64.99 Proc. C und 5.62 Proc. H.

0.2764 g der Substanz gaben 0.0367 g $Fe_2O_3$ oder 9.29 Proc. Fe.

0.2375 g der Substanz gaben 20.7 ccm N-Gas bei 21° und 717 mm Bst., entsprechend 9.34 Proc. N.

VI. Salzsaures Hämin aus Pferdeblut. Die reinen Krystalle wurden nicht analysirt, sondern auf gleiche Weise wie das vorhergehende Präparat in Hämatin verwandelt.

0.255 g der bei 110° getrockneten Substanz gaben 0.6047 g $CO_2$ und 0.1234 g $H_2O$ oder 64.68 Proc. C und 5.37 Proc. H.

0.1982 g des gleichen Präparates gaben, im offenen Rohre verbrannt, 0.4727 g $CO_2$, 0.0987 g $H_2O$ und 0.0263 g $Fe_2O_3$ oder 65.04 Proc. C, 5.53 Proc. H und 9.29 Proc. Fe.

VII. Salzsaures Hämin aus Schweineblut bei 110° getrocknet.

0.2514 g der Substanz mit chromsaurem Blei verbrannt gaben 0.5814 g $CO_2$ und 0.1303 g $H_2O$ oder 62.72 Proc. C und 5.72 Proc. H.

Der Rest des Präparates wurde in Hämatin verwandelt und im offenen Rohre mit Kupferoxyd verbrannt. 0.2307 g der Substanz gaben 0.5510 g $CO_2$, 0.1154 g $H_2O$ und 0.0307 g $Fe_2O_3$ oder 65.13 Proc. C, 5.55 Proc. H und 9.31 Proc. Fe.

Folgende Tabelle veranschaulicht die von uns ermittelte procentische Zusammensetzung der Häminkrystalle:

| | | C | H | Cl | Fe | N |
|---|---|---|---|---|---|---|
| I. Rinderblut . . . . . . | 1. | 62.73 | 5.69 | 5.29 | 8.95 | 8.99 |
| „ . . . . . . | 2. | 62.75 | 5.71 | 5.28 | 8.72 | — |
| „ . . . . . . | 3. | 62.81 | 5.86 | 5.38 | 8.61 | 9.13 |
| II. Pferdeblut . . . . . . | 1. | 62.90 | 5.98 | 5.30 | 8.97 | — |
| III. Schweineblut . . . . . | 1. | 62.72 | 5.72 | — | — | — |
| IV. Menschenblut . . . . | 1. | — | — | 5.22 | 8.96 | — |

Mit Rücksicht darauf, dass die Krystalle in ihrem Molekül Amylalkohol enthalten, entspricht diese procentische Zusammensetzung der Formel: $(C_{32}H_{30}N_4FeO_3HCl)_4$ $C_5H_{12}O$. Aequivalent = 2529.48 (Chlor = 35.37), welche verlangt: 63.09 Proc. C, 5.22 Proc. H, 5.59 Proc. Cl und 8.86 Proc. Fe resp. N.

Die Zahlen, welche für das durch Zersetzung der Krystalle mit Alkalien entstandene amorphe Hämatin erhalten würden, entsprechen der Formel $C_{32}H_{32}N_4FeO_4$, wie aus folgender Zusammenstellung ersichtlich:

| Gefunden: | | C | H | Fe | N |
|---|---|---|---|---|---|
| I. Rinderblut . . . . . . . | | 64.98 | 5.61 | 9.36 | 9.40 |
| II. Pferdeblut . . . . . . . | 1. | 64.99 | 5.62 | 9.29 | 9.34 |
| „ . . . . . . . | 2. | 64.68 | 5.37 | — | — |
| „ . . . . . . . | 3. | 65.04 | 5.53 | 9.29 | — |
| III. Schweineblut . . . . . . | 1. | 65.13 | 5.55 | 9.31 | — |

Die Formel $C_{32}H_{32}N_4FeO_4$, Aequivalent = 592, verlangt C 64.86 Proc., H 5.40 Proc., N und Fe 9.46 Proc.

Die Eigenschaften unseres Hämatins, sein Verhalten gegen concentrirte Schwefelsäure, gegen Salpetersäure, gegen Alkalien u. s. w. waren genau die gleichen, wie Hoppe-Seyler von seinem Hämatin angiebt, weshalb wir auch auf die nähere Beschreibung des Hämatins verzichten. Auch die procentische Zusammensetzung seiner Hämatinpräparate weicht nur wenig von der von uns gefundenen ab. Hoppe-Seyler[1]) fand:

| | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. |
|---|---|---|---|---|---|
| C . . . . . . . | 64.57 | 64.58 | 64.05 | 64.00 | — |
| H . . . . . . . | 5.57 | 5.40 | 5.40 | 5.61 | — |
| N . . . . . . . | 9.39 | 9.02 | 9.05 | 9.15 | 9.39 |
| Fe . . . . . . . | 8.78 | 8.82 | 8.88 | — | — |

Der C-, H- und N-Gehalt der zwei ersten Analysen entspricht der von uns aufgestellten Formel. Der Eisengehalt, den Hoppe-Seyler bloss durch Zurückwägen des Schiffchens bei der Verbrennung der Substanz im offenen Rohre bestimmte, ist dagegen zu niedrig gefunden worden.

Wir haben wiederholt gesehen, dass auch bei vorsichtigem Verbrennen ein geringer Anflug von Eisenoxyd über dem Schiffchen im Verbrennungsrohre kaum zu vermeiden ist; auch wurde der Eisengehalt in gleichen Hämatinpräparaten durch Erhitzen mit Salpetersäure im zugeschmolzenen Rohre, Fällen mit Ammoniak u. s. w. meistens höher von uns gefunden, als beim Zurückwägen des Schiffchens bei der Elementaranalyse. Die von Hoppe-Seyler aufgestellte Hämatinformel $C_{34}H_{34}FeN_4O_5$ entspricht einem monoacetylirten Hämatin: $C_{32}H_{31}(C_2H_3O)N_4FeO_4$.

[1]) Med. chem. Untersuchungen, S. 525.

Wir werden später das Verhalten unseres Hämatins gegen Eisessig, resp. Essigsäureanhydrid näher untersuchen. Auch Cazeneuve[1]) betrachtet auf Grund seiner Analyse die von Hoppe-Seyler aufgestellte Formel des Hämatins als die richtige. Demgegenüber müssen wir bemerken, dass unser Hämatin stets durch Zersetzung der reinen Häminkrystalle mit Natronlauge bereitet wurde, was bei Cazeneuve nicht der Fall war. Cazeneuve hat ferner, die Beobachtung Hoppe-Seyler's benutzend, wonach ammoniakalische Hämatinlösungen, mit Chlorbaryum und Chlorcalcium versetzt, baryum- resp. calciumhaltige Niederschläge geben, die Barytverbindung des Hämatins dargestellt. Dieses bei 130° getrocknete Barytsalz enthielt nach Cazeneuve 8.73 Proc. Fe und 9.85 Proc. Ba. Die von Cazeneuve aufgestellte Formel $(C_{34} H_{34} N_4 Fe O_5)_2 Ba$ verlangt 9.75 Proc. Ba und 7.97 Proc. Fe. Unsere Hämatinformel verlangt für das Barytsalz desselben, $= (C_{32} H_{31} N_4 Fe O_4)_2 Ba$, 10.38 Proc. Ba und 8.5 Proc. Fe; stimmt also besser überein mit den von ihm erhaltenen Zahlen.

Je reiner das Hämin, resp. Hämatin dargestellt wurde, um so höher war auch ihr Chlor- und Eisengehalt. Thudichum leugnet überhaupt den Chlorgehalt der Häminkrystalle. Es ist Hoppe-Seyler nie gelungen, mit Eisessig und Kochsalz Krystalle zu erhalten, die die Eigenschaften des Hämins hätten und chlorfrei waren. — In unseren Präparaten war der Chlorgehalt nicht unter 5 Proc. Mulder fand im Hämatin nur 6.64 Proc. Fe; Hoppe-Seyler 8.82 Proc. Fe. Das Mittel aus unseren Bestimmungen ist 9.3 Proc. Fe.

Nach allen unseren Wahrnehmungen halten wir es für wahrscheinlich, dass das Hämin wegen seiner ausgesprochenen Fähigkeit, mit anderen, auch indifferenten Substanzen Doppelverbindungen einzugehen, je nach der Darstellungsmethode voraussichtlich wechselnde Zusammensetzung haben wird, indem es mit dem angewandten Lösungsmittel zusammenkrystallisirt. Diese Thatsache ist insofern von hohem Interesse, als wir dadurch eine Vorstellung bekommen über die Art, wie das Hämin sich mit den Eiweissstoffen zu Hämoglobinen verbindet. Als wir ceteris paribus den Amylalkohol durch Aethylalkohol ersetzten, erhielten wir ebenfalls Häminkrystalle, jedoch derart mit Eiweissstoffen verunreinigt, dass an ihre Isolirung nicht zu denken war. Auch bei Anwendung von weniger Salzsäure schied sich aus der heiss filtrirten alkoholischen Lösung neben Hämin auch Eiweiss in gallertigen Massen ab. Bessere Resultate erzielten wir, als wir den Amylalkohol zur Extraction des Farbstoffes behielten, hingegen die Salzsäure durch Oxalsäure ersetzten. Die erhaltenen Krystalle, welche sich im Habitus von den mit Salzsäure erhaltenen Häminkrystallen in nichts unterschieden, waren chlorhaltig, enthielten aber weder Schwefelsäure noch Oxalsäure und zeigten sich bei Durchmusterung der mikroskopischen Präparate als ganz homogen. Die Krystalle wurden mit Aether, Alkohol und Wasser ausgewaschen, jedoch nur im Exsiccator über $SO_4 H_2$ getrocknet und analysirt.

1. 0.2376 g Substanz gaben 0.5363 g $CO_2$ und 0.108 g $H_2O$ oder 61.55 Proc. C und 5.06 Proc. H.

---

[1]) Bull. soc. chim. **27**, 486.

2. 0.232 g Substanz gaben 0.5230 g $CO_2$ und 0.1054 g $H_2O$ oder 61.48 Proc. C und 5.05 Proc. H.

3. 0.3292 g Substanz gaben 0.0677 g AgCl = 5.08 Proc. Cl und 0.0426 g $Fe_2O_3$ oder 9.05 Proc. Fe.

4. 0.2665 g Substanz gaben 22.7 ccm N-Gas bei 14° und 712 mm Bst., entsprechend 9.23 Proc. N.

Der Rest des Präparates, in Hämatin verwandelt, gab jedoch mit der Formel $C_{32}H_{32}N_4FeO_4$ übereinstimmende Zahlen. 0.3208 g der bei 110° getrockneten Substanz gaben 0.765 g $CO_2$, 0.1624 g $H_2O$ und 0.0423 g $Fe_2O_3$ oder 65.03 Proc. C, 5.62 Proc. H und 9.23 Proc. Fe.

Bevor wir die wahre Zusammensetzung der Häminkrystalle und das Vorhandensein des Amylalkohols darin erkannt hatten, vermutheten wir, dass beim Auflösen der Krystalle in Alkalien Sauerstoff absorbirt werde. Dies ist jedoch, wie übrigens schon Hoppe-Seyler gesehen, nicht der Fall. So wurden in einem Versuche 0.7427 g der trockenen Krystalle in ein Gläschen mit eingeschliffenem Stöpsel abgewogen und in einem Eudiometer mit verdünnter Natronlauge und Sauerstoff geschüttelt. Das Volumen des Sauerstoffs vor Zusatz der Häminkrystalle und des Alkali war = 68.8 ccm bei 20.5° und 712 mm Bst., auf 0° und 760 mm Bst. reducirt = 57.76 ccm. Nach dem Schütteln der Häminkrystalle mit Alkali war das Volumen des Sauerstoffs = 68.6 ccm, bei 21° und 708 mm Bst. reducirt = 57.89 ccm Sauerstoffgas. Demnach keine Absorption.

Obgleich die Häminkrystalle in heissem Alkohol ziemlich löslich sind, so lassen sie sich doch nicht ohne Zersetzung umkrystallisiren. Das aus heisser, alkoholischer Lösung abgeschiedene Product war nicht homogen, theils amorph, theils krystallinisch und enthielt nur 4.68 Proc. Chlor. Auf Tafel VII, Nr. 1 haben wir das Spectrum der Häminkrystalle abgebildet. Tafel VII, Nr. 2 giebt das Spectrum des Hämatins, durch Auflösen der Krystalle in Natronlauge erhalten. Die Lage des Hämatinstreifens zwischen *C* und *D* ist aber mehr oder weniger von der sauren Reaction der Flüssigkeit abhängig. Als wir die alkoholische Lösung mit dem gleichen Volumen Salzsäure versetzten, wurde der Streifen um 10 Theilstriche der Scala nach links zu verschoben, so dass er zwischen *B* und *C* zu liegen kam. Beim Auflösen der Krystalle in Alkali wird der Streifen mehr nach *D* zu verschoben. Es tritt aber auch gleichzeitig ein undeutlicher, verwaschener Streifen zwischen *D* und *E* auf. Der letztere verschwindet allmählich.

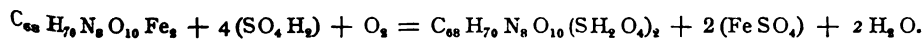
## Einwirkung von concentrirter Schwefelsäure, Zinn und Salzsäure wie auch der Oxydationsmittel auf Hämin und Hämatin.

Concentrirte Schwefelsäure entzieht dem Hämatin das Eisen. Mulder und van Goudoever[1]), die zuerst das eisenfreie Hämatin analysirten, fanden darin 70.18 Proc. C und 5.92 Proc. H. Nach Hoppe-Seyler[2]) werden beim Auflösen des Hämatins in concentrirter Schwefelsäure nur Spuren von Gas entwickelt, die

[1]) Journ. prakt. Chem. **32**, 186.

[2]) A. a. O. S. 529.

keinen Wasserstoff enthalten. Ferner sah er, dass, je nachdem beim Auflösen des Hämatins in $SO_4H_2$ Sauerstoffzutritt stattfindet oder nicht, zwei in ihrer Zusammensetzung und Eigenschaften verschiedene Producte entstehen. Wir haben diese Beobachtungen Hoppe-Seyler's bestätigen können. Wird Hämatin in offener Reibschale mit wenig, allmählich mehr concentrirter Schwefelsäure verrieben, so geht ein Theil des Hämatins in Lösung und aus der durch Glaswolle filtrirten schön purpurrothen Flüssigkeit fällt nach Zusatz von Wasser ein amorphes, eisenfreies Product, das, abfiltrirt, mit Wasser bis zum Verschwinden der Schwefelsäurereaction gewaschen und getrocknet, ein dunkelblaues, glänzendes, amorphes, in Wasser, verdünnten Säuren und Alkohol unlösliches, dagegen in Alkalien leicht lösliches Pulver darstellt. Dieser Körper wurde von Hoppe-Seyler mit dem Namen: Hämatoporphyrin bezeichnet. Er ist leicht kenntlich durch das spectroskopische Verhalten seiner Lösungen. Geringe Mengen der Substanz, in concentrirter Schwefelsäure gelöst, erscheinen im durchfallenden Lichte grünlich, im auffallenden roth; ebenso in concentrirter Salzsäure, worin der Farbstoff ein wenig löslich ist. Bei der Spectraluntersuchung solcher Lösungen sieht man unmittelbar vor der Linie *D* einen schmalen Absorptionsstreifen und einen zweiten sehr scharf begrenzten schwarzen Streifen zwischen *D* und *E*, näher an *D* liegen [1]). Die alkalische Lösung des Hämatoporphyrins zeigt vier Absorptionsstreifen, wie sie schon Hoppe-Seyler beschrieben hat, die jedoch nicht so scharf begrenzt sind, als wie die der sauren Lösung. Aus Hämatin ist die Ausbeute an Hämatoporphyrin nur gering, da stets ein Theil ungelöst bleibt, ein anderer in einen schwarzen, in Alkalien nicht mehr löslichen Farbstoff, von Hoppe-Seyler Hämatolin genannt, verwandelt wird. Weit bessere Ausbeute an Hämatoporphyrin erhielten wir, als wir die Häminkrystalle in concentrirter Schwefelsäure im Porcellanmörser verrieben. Die Flüssigkeit erwärmt sich etwas, es entweicht Salzsäure und die Häminkrystalle lösen sich vollständig auf. Durch Eingiessen von Wasser in die durch Glaswolle klar filtrirte Lösung wird ein Product mit allen Eigenschaften des Hämatoporphyrins erhalten, das nur noch minimale Mengen Eisen enthält, offenbar von nicht völlig zersetztem Hämin herrührend, das dagegen nur Spuren einer das Präparat verunreinigenden Sulfoverbindung enthält. Hoppe-Seyler fand in seinem Hämatoporphyrin im Mittel: C 66.81 Proc., H 5.93 Proc., N 9.35 Proc. und 2.35 Proc. $SO_3$ oder nach Abzug der gefundenen $SO_3$-Menge: C 68.42 Proc., H 6.07 Proc., N 9.58 Proc. und O 15.93 Proc., woraus er für das Hämatoporphyrin die Formel $C_{68}H_{74}N_8O_{12}$ berechnet. Schon die von ihm gegebene Erklärung, auf welche Weise ein Körper von der Formel: $C_{68}H_{74}N_8O_{12}$, also eine wasserstoff- und sauerstoffreichere Verbindung als das Hämatin, aus dem letzteren durch Einwirkung von concentrirter Schwefelsäure entstehen soll, ist unverständlich. Er formulirt sie folgendermaassen:

$$C_{68}H_{70}N_8O_{10}Fe_2 + 4(SO_4H_2) + O_2 = C_{68}H_{70}N_8O_{10}(SH_2O_4)_2 + 2(FeSO_4) + 2H_2O.$$

Die Verbindung $C_{68}H_{70}N_8O_{10}(SH_2O_4)_2$ sollte dann durch Einwirkung von Wasser im Ueberschuss zu $C_{68}H_{74}N_8O_{12}$ umgewandelt werden. Durch Erhitzen bis über 160° konnte dieser Verbindung kein Wasser entzogen werden.

[1]) Siehe die Spectraltafel VII, Nr. 3.

In Wirklichkeit ist die Einwirkung von concentrirter Schwefelsäure auf das Hämatin viel einfacher. Nach unseren Analysen ist das Hämatoporphyrin nach der Formel $C_{32}H_{32}N_4O_5$ zusammengesetzt und seine Entstehung beim Verreiben des Hämatins mit concentrirter $SO_4H_2$ erfolgt nach der Gleichung: $C_{32}H_{32}N_4O_4Fe + SO_4H_2 + O_2 = C_{32}H_{32}N_4O_5 + SO_4Fe + H_2O$.

Bei der Umwandlung der Häminkrystalle in Hämatoporphyrin wird nur HCl und kein $H_2O$ abgespalten.

Das zu den folgenden Analysen verwendete Hämatoporphyrin wurde aus der schwefelsauren Lösung mit Wasser gefällt, sorgfältig ausgewaschen, hierauf in verdünnter Natronlauge gelöst, filtrirt, mit Salzsäure abgeschieden, der Niederschlag bis zum Verschwinden der Chlorreaction ausgewaschen und zunächst auf Fliesspapier, dann bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknet.

0.3037 g der Substanz, mit $NO_3H$ im zugeschmolzenen Rohre auf 250° fünf Stunden lang erhitzt, gaben nach Zusatz von $BaCl_2$ 0.0061 g $SO_4Ba$ = 0.671 Proc. $SO_3$.

0.5012 g der Substanz gaben 0.0044 g $Fe_2O_3$ = 0.616 Proc. Fe.

0.2443 g des gleichen Präparates = 0.2391 Substanz aschefrei gaben 0.6099 g $CO_2$ und 0.1336 g $H_2O$ oder 68.08 Proc. C und 6.07 Proc. H. Aschefrei berechnet = 69.57 Proc. C und 6.20 Proc. H.

0.2488 g = 0.2435 aschefrei gaben 21.9 ccm N-Gas bei 19.5° und 711 mm Bst. = 9.67 Proc. N.

0.2297 g = 0.2249 g der Substanz aschefrei gaben 21.2 ccm N-Gas bei 25° und 713 mm Bst. oder 9.83 Proc. N-Gas.

Ein Hämatoporphyrinpräparat, von einer zweiten Darstellung herrührend, ergab folgende Zahlen:

0.3751 g der bei 110° getrockneten Substanz gaben mit Salpetersäure im zugeschmolzenen Rohre erhitzt 0.0050 g $SO_4Ba$ = 0.0017 g $SO_3$ oder 0.456 Proc. $SO_3$.

0.2235 g der Substanz im offenen Rohre verbrannt gaben 0.5625 g $CO_2$, 0.1227 g $H_2O$ und 0.0019 g $Fe_2O_3$, oder auf aschefreie Substanz berechnet, nach Abzug von $SO_3$ und $Fe_2O_3$ = 0.2206 g — 69.54 Proc. C und 6.13 Proc. H.

0.2551 g = 0.2518 g aschefreie Substanz gaben 23.2 ccm N-Gas bei 15° und 717 mm Bst. = 10.04 Proc. N oder aschefrei 10.17 Proc. N.

| Demnach auf die aschefreie Substanz berechnet, wurde gefunden: | | | Die Formel: $C_{32}H_{32}N_4O_5$ verlangt: | |
|---|---|---|---|---|
| C | 69.57 und 69.54 Proc. | | C | 69.55 Proc. |
| H | 6.20 „ 6.13 „ | | H | 5.80 „ |
| N | 9.67, 9.83 u. 10.17 „ | | N | 10.14 „ |
| | | | O | 14.51 „ |

Das Product, das bei Luftausschluss durch concentrirte Schwefelsäure aus Hämatin gebildet wird — von Hoppe-Seyler Hämatolin benannt — haben wir nicht näher untersucht. Der Körper ist weder in Säuren, noch in Alkalien löslich, was ein wesentliches Hinderniss für die Reindarstellung des Präparates ist. Ueberdies haben wir gesehen, dass schon bei gelinder Temperaturerhöhung, wie z. B. Dige-

riren auf dem Wasserbade, schweflige Säure entweicht und eine partielle Verkohlung stattzufinden scheint.

Die Einwirkung reducirender Agentien auf das Hämatin ist schon früher und namentlich von Hoppe-Seyler [1]) untersucht worden. So wurde das Verhalten des Hämatins gegen Natronlauge und Zinkstaub, Natriumamalgam, Zinn und Salzsäure und Phosphorchlorür studirt, dabei auch Producte erhalten, die nicht rein isolirt wurden und auch bei der Unkenntniss der wirklichen Zusammensetzung des Hämatins keine Aufklärung über den Verlauf der Reaction geben konnten. In einer späteren Publication theilt Hoppe-Seyler [2]) mit, dass das früher von ihm durch Einwirkung von Zinn und Salzsäure auf Hämatin erhaltene Product durchaus die gleichen Eigenschaften besitzt, wie das inzwischen von Maly aus Bilirubin erhaltene Urobilin, und dass er es als mit dem letzteren identisch erachte. Eine eingehendere Untersuchung, sowie Analysen des Urobilins aus Hämatin hat seither Hoppe-Seyler nicht veröffentlicht.

Nach unseren vorläufigen Versuchen sind die durch Einwirkung von reducirenden Agentien aus Hämatin entstehenden Producte sehr zahlreich und mannigfaltig und voraussichtlich wird dies auch der beste Weg sein, um den allmählichen Abbau des Hämatinmoleküls zu bewerkstelligen. Allerdings sind dazu grössere Quantitäten des Farbstoffs erforderlich. Einen Theil davon haben wir uns selbst bereitet, einen anderen hatte Herr Martin Häffner, Besitzer der Albuminfabrik in Berlin, die Freundlichkeit, nach unserer Vorschrift darzustellen. Wir haben bis jetzt etwas eingehender nur die Einwirkung von Zinn und Salzsäure auf Hämatin untersucht und schon hier gesehen, dass je nach der Dauer der Einwirkung und Concentration der Salzsäure verschiedene Reductionsproducte entstehen. Relativ in grösster Menge und am leichtesten isolirbar wird auf folgende Weise eine Substanz erhalten, die wir ihrer Zusammensetzung nach als Hexahydrohämatoporphyrin bezeichnen wollen.

5 g reiner Häminkrystalle werden in einem Kolben mit 1 Liter 93 proc. Alkohols übergossen, der Flüssigkeit Zinnfolie und 100 ccm reiner Salzsäure (spec. Gew. 1.12) zugesetzt und fünf Stunden lang am Rückflusskühler auf dem Wasserbade gekocht. Hierauf wird die gelbgefärbte Lösung, die spectroskopisch untersucht nur einen dem Urobilin entsprechenden Absorptionsstreifen zeigt, von dem überschüssigen Zinn — das Hämin ist völlig gelöst und reducirt — filtrirt. Der Alkohol wird aus dem Filtrate zur Hälfte abdestillirt und der Rest bis auf etwa ein Drittheil auf dem Wasserbade bei gelinder Wärme verdunstet. Nach fünf- bis zehnstündigem Stehen scheidet sich aus dieser Lösung in Körnern und homogenen kugeligen Aggregaten, die jedoch keine deutlich krystallinische Structur zeigen, ein braunrother Farbstoff aus, von welchem durch Wasserzusatz zu der Lauge noch mehr erhalten wird. Dieser Farbstoff ist in Ammoniak und fixen Alkalien unlöslich, sehr wenig in verdünnter Salzsäure, leicht dagegen in Alkohol mit dunkelrother Farbe. Die concentrirte alkoholische Lösung zeigt bei der Spectralunter-

---

[1]) A. a. O. S. 553.

[2]) Ber. 7, 1066.

suchung einen Absorptionsstreifen zwischen *D* und *E* liegend, näher an *D*. Von *E* ab wird alles Licht absorbirt. Mit dem gleichen Volumen Alkohol verdünnt, hellt sich das Spectrum auf und es werden drei Absorptionsstreifen sichtbar: Zwei schmale zwischen *D* und *E* und ein breiter zwischen *b* und *F*, dem Urobilinstreifen entsprechend (s. Tafel VII, Nr. 4 und 5). Zur weiteren Reinigung wurde der Farbstoff von Neuem in Alkohol gelöst, filtrirt und das Filtrat zur Entfernung von Sn und Fe mit alkoholischem Ammoniak gekocht. Da der beim Verdunsten des Filtrates zur Trockne hinterbliebene Farbstoff noch immer geringe Mengen von Asche enthielt, so wurde er längere Zeit mit verdünnter Salzsäure auf dem Wasserbade erwärmt, hierauf filtrirt und bis zum Verschwinden der Chlorreaction im Filtrate ausgewaschen. Das so erhaltene, bei 110 bis 115° getrocknete Präparat ist ein schwarzes Pulver mit einem Stich ins Grüne. Es enthielt keine wägbare Menge Chlor, dagegen auf Platinblech verbrannt, hinterliess es eine geringe Menge Asche, aus Zinnoxyd bestehend. Die Elementaranalysen der Substanz lieferten folgende Zahlen:

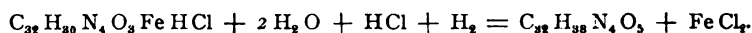
0.2602 g der Substanz im offenen Rohre mit Kupferoxyd verbrannt gaben 0.6310 g $CO_2$, 0.1548 g $H_2O$ und 0.0078 g Asche oder auf die aschefreie Substanz = 0.2524 g berechnet: 68.18 Proc. C und 6.81 Proc. H.

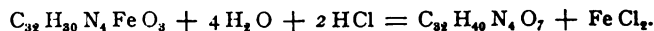
0.2572 g Substanz oder 0.2493 g aschefrei desselben Präparates gaben 0.6264 g $CO_2$ und 0.1604 g $H_2O$ oder in Procenten aschefrei berechnet: 68.52 Proc. C und 7.14 Proc. H.

0.2330 g Substanz oder 0.2257 g aschefrei gaben bei 17° und 719 mm Bst. 21 ccm N-Gas, entsprechend 9.9 Proc. N.

| | Versuch: | | Die Formel des Hexahydrohämatoporphyrins = $C_{32}H_{38}N_4O_5$ verlangt: |
|---|---|---|---|
| C | 68.18 und 68.52 Proc. | C | 68.81 Proc. |
| H | 6.81 „ 7.14 „ | H | 6.81 „ |
| N | 9.90 Proc. | N | 10.03 „ |

Die Bildung des Hexahydrohämatoporphyrins aus Hämin geschieht unter gleichzeitiger Aufnahme von Wasser und Wasserstoff in das Molekül:

$$C_{32}H_{30}N_4O_3FeHCl + 2H_2O + HCl + H_2 = C_{32}H_{38}N_4O_5 + FeCl_2.$$

Ausser dem Hexahydrohämatoporphyrin entsteht bei der Reduction des Hämins mit Zinn und Salzsäure in geringer Menge noch ein Farbstoff, der alle Eigenschaften des Urobilins hat. Er ist in Alkalien mit braunrother Farbe löslich, die beim Verdünnen bernsteingelb wird. Die ammoniakalische Lösung, mit etwas Chlorzinklösung versetzt, fluorescirt grün. Durch Säuren wird er aus der alkalischen Lösung in amorphen rothbraunen Flocken abgeschieden, die nach dem Trocknen ein braunes Pulver mit grünem Metallreflex darstellen. Die gesättigten sauren Lösungen des Farbstoffs sind gelbroth und werden beim Verdünnen rosa. Sie zeigen, spectroskopisch geprüft, den charakterischen Urobilinstreifen. Der Farbstoff entsteht in grösserer Menge dann, wenn alkoholische Häminlösung mit Zinn und concentrirter roher Salzsäure gekocht wird. Es stimmt dies mit der theoretischen Voraussetzung überein, denn die Umwandlung des Hämins zu Urobilin besteht überwiegend in Hydratation:

$$C_{32}H_{30}N_4FeO_3 + 4H_2O + 2HCl = C_{32}H_{40}N_4O_7 + FeCl_2.$$

Es ist schwierig, den Farbstoff aschefrei zu erhalten, doch hoffen wir in Kürze die Frage der Urobilinbildung aus Blutfarbstoff definitiv entscheiden zu können.

Bei Anwendung von Zinn und roher Salzsäure kann durch längeres Kochen die alkoholische Häminlösung nahezu ganz entfärbt werden. Es entstehen dabei eigenthümliche Producte von dem charakteristischen Pyridingeruch. Ferner ging beim Destilliren der mit Alkali übersättigten Lösung eine flüchtige, in Wasser lösliche Verbindung über, die einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspan intensiv roth färbte. Als die farblose, mit wenig Salzsäure angesäuerte Lösung auf dem Wasserbade eingeengt wurde, färbte sie sich immer stärker roth und es schied sich ein amorphes, grünlich metallisch glänzendes Harz ab. Wir wollen mit voraussichtlichem Erfolge diese Producte erst dann näher untersuchen, wenn uns mehrere 100 g Hämin zu Gebote stehen werden, was übrigens jetzt keine grosse Schwierigkeit mehr hat.

Wir haben auch die Einwirkung von Salpetersäure sowie übermangansaurem Kali auf das Hämatin in alkalischer Lösung untersucht. In beiden Fällen geht die Oxydation viel zu weit. Trotzdem wir die Concentration der Lösungen, Temperatur u. s. w. vielfach variirten, wobei wir mehr wie 60 g der Häminkrystalle verarbeiteten, gelang es uns entweder nur die Endproducte der Oxydation, nämlich viel Oxalsäure, Kohlensäure und Ammoniak, oder intermediäre, amorphe Substanzen zu erhalten, bei denen jede Garantie, ein chemisches Individuum untersucht zu haben, fehlte. Mit ziemlicher Sicherheit kann man annehmen, dass bei der Oxydation des Hämatins mit Salpetersäure keine flüchtigen organischen Basen entstehen. Als wir die salpetersaure Lösung mit Natronlauge übersättigten und destillirten, ging nur Ammoniak über. Das in Salzsäure aufgefangene Destillat wurde mit Platinchlorid eingedampft und in dem abgeschiedenen Platindoppelsalz, das die Krystallform und sonstige Eigenschaften des Platinsalmiaks hatte, 43.7 Proc. Pt gefunden. $(NH_4Cl)_2PtCl_4$ verlangt 44.2 Proc. Pt.

Hierbei wollen wir einer älteren Angabe von Leyer und Köller[1]) entgegentreten, wonach bei der Zersetzung von Hämatin mit verdünnter Schwefelsäure „reichliche Mengen von Tyrosin und Leucin“ entstehen sollen. Auch durch Schmelzen von Hämatin mit Kalihydrat wird weder Tyrosin, noch Leucin gebildet. Wie schon Hoppe-Seyler angegeben hat, wird Hämatin von schmelzendem Kalihydrat nur schwer angegriffen und erst bei starkem Erhitzen wird Ammoniak frei. Als wir 20 g Hämatin mit dem fünffachen Gewichte schmelzenden Kalihydrates in einer Silberschale bis zur vollständigen Zersetzung erhitzten, entwich ziemlich viel Pyrrol. Die Hauptmenge aber verkohlte und nur in minimalen, für weitere Untersuchung nicht hinreichenden Mengen wurde ein kornblumenblauer, in Säuren sich grün lösender Farbstoff erhalten.

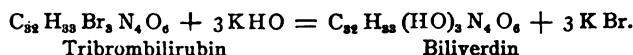
### Die Beziehungen des Blutfarbstoffs zu den Gallenfarbstoffen.

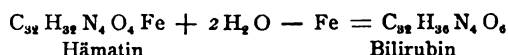
Das Bilirubin ist nach der Formel $C_{32}H_{36}N_4O_6$ zusammengesetzt. Dass diese Formel der älteren, von Staedeler aufgestellten: $C_{16}H_{19}N_2O_3$, vorzuziehen ist, geht mit Sicherheit aus den Untersuchungen von Maly[2]) hervor. Unter Aufnahme

[1]) Ann. Chem. Pharm. **83**, 337, 1852.

[2]) Sitzber. d. Wien. Akad. d. Wissensch. **72**, III. Abth. 1875.

von $H_2O$ und $H_2$ geht das Bilirubin in das Urobilin (Hydrobilirubin $C_{32}H_{40}N_4O_7$) über, was nur bei der Verdoppelung der Staedeler'schen Formel verständlich ist. Ferner giebt das Bilirubin mit Brom ein Tribrombilirubin von der Zusammensetzung: $C_{32}H_{33}Br_3N_4O_6$, das durch Alkalien in Biliverdin verwandelt wird:

$$\underset{\text{Tribrombilirubin}}{C_{32}H_{33}Br_3N_4O_6} + 3\,KHO = \underset{\text{Biliverdin}}{C_{32}H_{33}(HO)_3N_4O_6} + 3\,K\,Br.$$

Wenn Blutfarbstoff in Gallenfarbstoff übergeht, so geschieht dies unter Abspaltung von Eisen und Aufnahme von Wasser:

$$\underset{\text{Hämatin}}{C_{32}H_{32}N_4O_4Fe} + 2\,H_2O - Fe = \underset{\text{Bilirubin}}{C_{32}H_{36}N_4O_6}$$

Mit dieser einfachen Gleichung erfüllt die Chemie eine alte Forderung der Pathologie, „dass zwischen dem Blutfarbstoff und dem Gallenfarbstoff ein naher genetischer Zusammenhang bestehen müsse". Bekanntlich überall da, wo Blut im lebendigen Körper aus den Gefässen in das umgebende Gewebe austritt, wie in den Corpora lutea der Ovarien, in den apoplektischen Gehirnnarben, in hämorrhagischen Milzinfarcten, in Cysten, im Blute todtfauler Früchte u. s. w., finden sich regelmässig mikroskopische Krystalle des zuerst von Virchow[1]) in extravasirtem Blute beobachteten Hämatoidins. Ueber die Identität des Hämatoidins mit Bilirubin ist viel discutirt worden. Robin und Riche[2]) erhielten einmal aus einer Lebercyste gegen 3 g Hämatoidin und die trockenen Krystalle aus 65.05 Proc. C, 6.37 Proc. H und 10.51 Proc. N bestehend; daneben noch 0.20 Proc. alkali- und eisenhaltige Asche. Die Formel des Bilirubins $C_{32}H_{36}N_4O_6$ verlangt 67.1 Proc. C, 6.3 Proc. H und 9.8 Proc. N. Wenn man bedenkt, dass die Krystalle nicht ganz rein, weil aschehaltig, und sonst in ihrem Verhalten gegen Reagentien dem Bilirubin sehr ähnlich waren, so ist die Annahme sehr wahrscheinlich, dass Hämatoidin und Bilirubin entweder identisch oder isomer sind. Dass das Hämatoidin, resp. Bilirubin im lebendigen Organismus zweifellos aus dem Blutfarbstoff entsteht, geht aus dem bekannten Versuche von Th. Langhans[3]) hervor.

Wird Tauben ihr eigenes geronnenes Blut unter die Haut gebracht, so findet sich schon am zweiten Tage innerhalb des Blutgerinnsels das Hämatoidin in mikroskopischen rhombischen Tafeln und Nadeln auskrystallisirt.

Der zweite vom Blutfarbstoff abstammende Farbstoff im Organismus ist das Urobilin. Gerhardt[4]) machte zuerst auf das Vorkommen von abnorm grossen Mengen von Urobilin im Harne bei gewissen Krankheiten aufmerksam. Seither wurde von verschiedener Seite, so namentlich von Bergmann[5]) und in der letzten Zeit von R. Dick[6]) der Uebergang von abnorm grossen Mengen Urobilin in den Harn bei Gehirnblutungen, bei Lungeninfarcten, Hämatocele, bei Verletzungen und

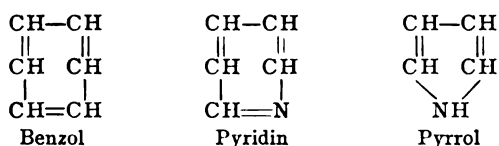
[1]) Dessen Archiv **1**, 445, 1847.
[2]) Compt. rend. **41**, 506.
[3]) Virchow's Archiv **49**, 82.
[4]) Wiener med. Wochenschr. 1877.
[5]) Volkmann'sche Vorträge Nr. 190.
[6]) Archiv f. Gynäkologie **23**, H. 1. — Dieser Band S. 724.

daherigen Blutextravasaten in die Gewebe, bei Blutergüssen in die Bauchhöhle in Folge von Graviditas extrauterina und Platzen des Fruchtsackes wiederholt constatirt.

Auch unter physiologischen Verhältnissen scheint der Gallenfarbstoff durch Zersetzung des Butfarbstoffs gebildet zu werden, wofür nicht allein die Gegenwart des Bilirubins in der Galle, sondern auch ihr hoher Eisengehalt spricht. Nach Young [1]) enthalten 100 ccm Ochsengalle 0.00438, Hundegalle 0.0160 und Menschengalle 0.0066 g Eisen.

Möglich, ja sogar wahrscheinlich ist aber auch das Umgekehrte der Fall, das heisst, dass das Bilirubin eine Vorstufe bei der Bildung des Blutfarbstoffs in der Leberzelle ist. Vom chemischen Gesichtspunkte aus spricht eine Anzahl von Thatsachen dafür. Die notorisch erwiesene Bildung von Glycogen aus Dextrose und des Harnstoffs aus kohlensaurem Ammon in der Leber beruht auf einer Synthese unter Austritt von Wasser. Das Cholesterin (ein einatomiger Alkohol) sowie die aus der Galle verschiedener Thiere dargestellten Cholalsäuren haben alle das gemeinschaftlich, dass sie in ihrem Molekül relativ zum Kohlenstoff weniger Wasserstoffe enthalten, als wie die uns als Nahrungsmittel dienenden Fette, Kohlehydrate und Eiweissstoffe, also das Material, woraus sie gebildet werden.

In die gleiche Kategorie gehört auch das wasserstoff- und sauerstoffarme Hämatin. Schon dieser Umstand allein, dann aber auch das Auftreten von Pyrrol und Pyridin bei der Spaltung des Blutfarbstoffs sprechen dafür, dass die Kohlenstoffatome im Molekül des Hämatins nicht wie die Fettkörper durch einfache, sondern wie die Benzolderivate durch doppelte Bindung mit einander verkettet sind. Die Beziehungen der Spaltungsproducte des Blutfarbstoffs zu Benzol sind ohne Weiteres aus folgenden Structurformeln ersichtlich:

```
CH—CH        CH—CH        CH—CH
||  ||       ||  ||       ||  ||
CH  CH       CH  CH       CH  CH
|   |        |   |          \  /
CH=CH        CH==N           NH
Benzol       Pyridin      Pyrrol
```

Die Leberzelle wäre demnach am passendsten der pflanzlichen Zelle vergleichbar. In beiden werden einfachere Moleküle zu complexeren wasserstoff- und sauerstoffärmeren Verbindungen verarbeitet.

Es wäre aber ungerechtfertigt, ausschliesslich und unter allen Umständen nur der Leberzelle die Bildung des Blutfarbstoffs vindiciren zu wollen. Es liegt eine Thatsache vor, welche diese Ausschliesslichkeit wenigstens für den embryonalen Zustand nicht zulässt. Hier tritt der Blutfarbstoff zu einer Zeit auf, wo die Leber noch gar nicht vorhanden ist. Wie Prof. Th. Studer uns mittheilte, tritt das rothe Blut beim Embryo des Hühnchens am Ende des zweiten Bruttages auf und werden vom mittleren Keimblatte aus Herz und Gefässe angelegt. Die rothen Blutzellen finden sich in der Regel schon in der ersten Hälfte des zweiten Bruttages. Die Leber dagegen erscheint beim Hühnchen als paarige Ausstülpung des Duodenums erst in der 55. bis 60. Stunde der Bebrütung; auch stehen zunächst die Ausstülpungen und die Venen

[1]) Maly's Jahresber. 1, 220.

nicht in Verbindung. Am Ende des dritten Tages bilden sich von der einfachen Anlage Ausstülpungen und erst dann bildet sich allmählich das Gefässnetz dazwischen aus.

Soweit wir die Hämatine aus dem Blute der verschiedenen Thierspecies analysirten, haben sie die gleiche Zusammensetzung, und da sie auch in ihren Eigenschaften keine merklichen Verschiedenheiten zeigten, so ist ihre Identität kaum zu bezweifeln. Andererseits ist es sicher, dass die Hämoglobine der verschiedenen Blutarten keine identischen Körper sind. So ist die Löslichkeit im Wasser der aus verschiedenen Thieren gewonnenen Hämoglobinkrystalle eine sehr verschiedene. Manche, wie z. B. die des Rindes, sind in hohem Grade hygroskopisch, so dass sie über 0° an der Luft zerfliessen; andere, wie die des Raben, sind in kaltem Wasser ungemein schwer löslich. Das Hämoglobin aus Eichhörnchenblut krystallisirt im hexagonalen, das der anderen Thiere im rhombischen System. Endlich ist die procentische Zusammensetzung der Hämoglobine verschieden. C. Schmidt[1]) fand in 100 Thln. Hämoglobin aus Hundeblut 54.15 Proc. C, 7.18 Proc. H, 16.33 Proc. N, 0.43 Proc. Fe und 0.67 Proc. S. Nach den übereinstimmenden Analysen von Kossel, Otto und Bücheler[2]) enthält das Hämoglobin aus Pferdeblut 54.68 Proc. C, 7.07 Proc. H, 17.40 Proc. N, 0.46 Proc. Fe und 0.66 Proc. S. Der Unterschied im Stickstoffgehalte liegt ausserhalb der Fehlergrenzen. Hüfner[3]) berechnet für das Pferdehämoglobin die empirische Formel $C_{650} H_{852} N_{149} S_2 Fe O_{149}$ und für das Hundehämoglobin[4]) die Formel $C_{636} H_{1025} N_{164} Fe S_3 O_{189}$.

Die Verschiedenheit der Hämoglobine kann nur dadurch bedingt sein, dass der gleiche Farbstoff — das Hämin — mit verschiedenen Eiweissstoffen, resp. mit wechselnder Anzahl der Moleküle der letzteren sich verbindet. Es ist möglich, ja sogar wahrscheinlich, dass diese Eiweissverbindungen des Hämins nach Art der von uns analysirten Verbindung mit Amylalkohol constituirt sind, doch ist eine definitive Aufklärung hierüber erst durch weitere Forschungen zu erbringen. Immerhin werden durch die Resultate unserer Untersuchung die Zusammensetzung und chemischen Beziehungen des farbigen Bestandtheils der Hämoglobine — der complexesten Proteïnsubstanz — aufgeklärt.

Bern, im August 1884.

[1]) Vergl. die Monographie von Preyer, S. 64.
[2]) Vergl. Zeitschr. f. physiol. Chem. **8**, 361.
[3]) Ebenda.
[4]) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **22**, 385.

## Erklärung der Spectraltafel.

(Tafel VII.)

Nr. 1. Salzsaures Hämin in verdünnter alkoholischer Lösung.
Nr. 2. Hämatin in ammoniakalischer Lösung.
Nr. 3. Hämatoporphyrin in concentrirter Schwefelsäure gelöst.
Nr. 4. Hexahydrohämatoporphyrin in concentrirter alkoholischer Lösung.
Nr. 5. Dieselbe Lösung mit dem gleichen Volum Alkohol verdünnt.
Nr. 6. Uroroseïn aus mit Salzsäure angesäuertem Harne mit Amylalkohol extrahirt.
Nr. 7. Urobilin aus saurem Harne mit Amylalkohol extrahirt.

# Die Alkoholfrage

von

## M. Nencki.

Vortrag, gehalten in der Sitzung der medicin. Gesellschaft in Bern am 15. Januar 1884 von M. Nencki, Professor der physiologischen Chemie in Bern. Correspondenzbl. für schweiz. Aerzte, Jahrg. 14 (1884).

Es ist Ihnen, meine Herren, bekannt, dass schon seit längerer Zeit eine eidgenössische Commission mit der Aufgabe betraut ist, zu untersuchen, wie dem Missbrauch alkoholischer Getränke, welcher namentlich unter der Landbevölkerung einzelner Cantone in verderblicher Weise um sich gegriffen hat, vorzubeugen sei. Da nun die Resultate der angestellten Untersuchungen dieser Commission, sowie auch ihre Vorschläge, voraussichtlich noch im Frühjahr dieses Jahres an die Bundesversammlung gelangen und möglicherweise die gegen den Missbrauch spirituöser Getränke zu ergreifenden Maassregeln der Volksabstimmung unterbreitet werden, so habe ich es für angezeigt gehalten, im Schoosse unserer Gesellschaft eine Discussion über diesen Gegenstand anzuregen und gleichzeitig Ihnen einige in der letzten Zeit als sicher festgestellte Thatsachen, das Verhalten des Alkohols im Organismus und dessen physiologische Wirkung betreffend, mitzutheilen.

Ich will mit dem letzteren beginnen.

Es ist zunächst eine nicht zu bezweifelnde Thatsache, dass Aethylalkohol selbst in starker Concentration und grossen einmaligen Dosen — 120 bis 200 ccm 50 proc. Weingeistes — im menschlichen Organismus ziemlich vollständig zu Kohlensäure und Wasser verbrannt wird. Durch eine Reihe sorgfältiger Untersuchungen, grösstentheils an sich selber angestellt, hat vor Kurzem Herr Guido Bodländer[1]), Assistent am pharmakologischen Institute in Bonn, die streitige Frage, wie viel von dem eingenommenen Alkohol durch die Nieren, Lunge und Haut unverändert ausgeschieden werden, dahin erledigt, dass selbst bei den grossen, oben angegebenen Dosen höchstens 5 Proc. und dann vorwiegend in dem Harne unverändert auftreten. Folgende Tabelle veranschaulicht Ihnen die Untersuchungsresultate des Herrn Bodländer:

| Ort der Ausscheidung | Beim Hunde | | Beim Menschen | |
|---|---|---|---|---|
| | Mittel aus Versuchen | Procentsatz d. ausgeschiedenen Alkohols | Mittel aus Versuchen | Procentsatz d. ausgeschiedenen Alkohols |
| Niere . . . . . . . . . | 4 | 1.576 | 12 | 1.177 |
| Haut . . . . . . . . . | 2 | 0.0 | 3 | 0.140 |
| Lunge . . . . . . . . | 3 | 1.946 | 3 | 1.598 |
| Darm . . . . . . . . . | — | — | 1 | — |
| | | Zusammen 3.522 Proc. | | 2.915 Proc. |

[1]) Pflüger's Archiv f. Physiologie **32**, 398.

Dass der eingenommene Alkohol wirklich zu den Endproducten und nicht zu intermediären Oxydationsproducten verbrannt, also etwa zu synthetischen Processen, d. h. zum Aufbau complexerer Verbindungen in unserem Organismus verwendet wird, geht mit ziemlicher Sicherheit aus dem Verhalten kohlenstoffhaltiger Verbindungen hervor, welche in ihrem Molekül ausser der Fettgruppe noch den Benzolkern enthalten. In solchen Verbindungen wird meistentheils die Fettgruppe oxydirt; der aromatische Kern dagegen bleibt unangegriffen und das nicht flüchtige Oxydationsproduct, in den meisten Fällen Benzoësäure, wird nicht durch die Lunge, sondern durch den Harn ausgeschieden. So wird Phenylmethylalkohol zu Phenylkohlensäure (Benzoësäure), ferner Oxyphenylmethylalkohol (Saligenin) zu Oxyphenylkohlensäure (Salicylsäure) oxydirt. Selbst das bedeutend schwerer oxydirbare Radical des Aethylalkohols wird im Organismus zu Kohlensäure und Wasser verbrannt. So wird eingenommenes Aethylbenzol als Benzoësäure, resp. Hippursäure ausgeschieden.

Die Intensität der Verbrennungen in unserem Organismus hängt viel weniger von der Menge des zu unseren Geweben zugeführten molekularen Sauerstoffs ($= O_2$) als von der Menge des in den Geweben selbst gebildeten atomistischen Sauerstoffs ($= O_1$) ab; denn nur durch den letzteren geschieht die Verbrennung der uns als Nahrung zugeführten und nicht in reducirende Moleküle verwandelten Nahrungsstoffe. Den Geweben wird durch das Blut mehr als hinreichend molekularer Sauerstoff zugeführt und ebenso wenig wie das arterielle Blut völlig mit Sauerstoff gesättigt ist, ist das von den Geweben zurückkehrende venöse etwa sauerstofffrei. Schäffer fand im Mittel aus fünf Analysen für das arterielle Blut 19.2 Vol.-Proc., für das venöse 11.9 Proc. Sauerstoff. Es werden demnach von dem zugeführten Sauerstoff nur etwa 37 Proc. in den Geweben zurückbehalten.

Allem Anscheine nach wird bei der Resorption mässiger Alkoholdosen vom Darme aus, wenn nicht die Kohlensäureausscheidung, so doch die Sauerstoffaufnahme eher gesteigert, wie dies aus den kürzlich publicirten Versuchen an Kaninchen von Wolfers [1]) hervorgeht. Erst grosse, Narkose bewirkende Alkoholdosen setzen sowohl die Sauerstoffaufnahme, wie die Kohlensäureausscheidung bedeutend herab. Zieht man aber den Umstand in Betracht, dass in den Geweben, in welchen bekanntlich die Verbrennungen geschehen, aus dem als Oxyhämoglobin zugeführten molekularen Sauerstoff stets nur ein bestimmter, wenn auch innerhalb gewisser Grenzen schwankender Bruchtheil atomistischen Sauerstoffs entsteht und disponibel ist und dass normaler Weise in dem Zellinhalt stets nur durch atomistischen Sauerstoff verbrennbare Materien, wie Fett, Seifen, Kohlehydrate, Milchsäure und todtes Eiweiss enthalten sind, so ist a priori zu erwarten, dass der so leicht resorbirbare und auch nur durch atomistischen Sauerstoff verbrennbare Alkohol, sobald er in die Zellen gelangt, daselbst den disponiblen atomistischen Sauerstoff absorbiren und so die Oxydation der oben genannten normalen Bestandtheile der Zellen behindern wird. Experimentell ist diese Voraussetzung erst in der letzten Zeit von Dr. C. Schoumoff und

[1]) Pflüger's Archiv f. Physiologie **32**, 1883.

N. Simanowski[1]), Assistenten an der medicin. Klinik in Petersburg, bewiesen worden.

Bei meinen gemeinschaftlich mit N. Sieber ausgeführten Untersuchungen über die physiologische Oxydation haben wir gesehen, dass sowohl Menschen wie Thiere normaler Weise auch innerhalb eines Zeitintervalls von mehreren Monaten stets nur einen bestimmten constanten Bruchtheil des eingeführten Benzols zu Phenol, Brenzcatechin und Hydrochinon oxydiren, dass dagegen die gleichen Thiere bei Vergiftung mit Phosphor, schweren Metallen, Aether- oder Chloroformnarkose, sowie bei gewissen Krankheiten bedeutend weniger Phenol aus der gleichen Menge Benzol bilden. Es ist uns namentlich aufgefallen, dass bei mit Aether oder Chloroform anästhesirten Thieren das Benzol dann am wenigsten oxydirt wurde, wenn dieselben sich in tiefer Narkose befanden. Wir haben diese Erscheinung, gestützt auf die Untersuchungen Claude Bernard's[2]) über die Art der Wirkung der Anästhetica auf Pflanzen und Thiere, in der Art gedeutet, dass durch das anästhesirende Mittel die Irritabilität des Protoplasmas aufgehoben sei. Claude Bernard sah, dass, wenn z. B. frischer Muskel Aetherdämpfen ausgesetzt, oder etwa in den lebendigen Muskel ätherhaltiges Wasser eingespritzt wird, die Muskelfaser bei hinreichender Einwirkung zur vollkommenen Gerinnung gebracht wird und dann für immer todt ist. Vor diesem Endzustande jedoch lasse sich durch geeignete Verdünnung des Aetherwassers, sowie zeitiges Aufhören mit der Injection ein Zustand herbeiführen, wo der Muskel einzig und allein seine Reizbarkeit verliert. Jetzt ist er anästhesirt und nach einiger Zeit erholt er sich vollkommen. Untersucht man in diesem Zustande den Muskel, so sieht man unter dem Mikroskope, dass die Faser nicht mehr durchsichtig, sondern opak und im Zustande einer Halbgerinnung sich befindet. Wir haben damals die herabgesetzte Oxydationsfähigkeit der Gewebe gegenüber dem Benzol als eine Folge dieser Trübungen und Halbgerinnungen in dem lebendigen Protoplasma angesehen. Da nun Aethylalkohol in grösseren Dosen ähnlich wie Aether anästhesirend und Schlaf machend wirkt, so hat Herr Dr. Simanowski auf meinen Wunsch den Einfluss des Aethylalkohols auf die Oxydation des Benzols untersucht. Das Ergebniss dieser Untersuchung war, dass Alkohol in 50 proc. Lösung schon in Dosen von 1 g per 1 kg Körpergewicht sowohl bei Thieren wie bei Menschen die Oxydation des Benzols im Organismus merklich herabsetzt.

Beispielsweise theile ich Ihnen hier einen Versuch mit, welcher an einem 27 Jahre alten, 71.2 kg schweren, gesunden und an alkoholische Getränke nicht gewöhnten Arzte angestellt wurde. Nachdem bestimmt wurde, wie viel er nach Einnahme von 2.0 g Benzol Phenol ausscheidet, nahm er 5 Tage später zunächst wiederum 2.0 g Benzol und hierauf 150 g Alkohol absolut in Form von Cognac (47 Proc.) in drei gleichen Dosen innerhalb 6 Stunden, also etwas mehr als 2.0 g per 1 kg Körpergewicht.

Die ausgeschiedenen Phenolmengen zeigt folgende Tabelle:

---

[1]) Pflüger's Archiv f. Physiologie **33**, 251. — Siehe folgenden Artikel.

[2]) Leçons sur les phénomènes de la vie. Paris. 1878. p. 250 ff.

| | Phenol nach 2.0 g Benzol | |
|---|---|---|
| | normal<br>g | nach 150 g Alkohol<br>g |
| In den ersten 9 Stunden . . . | 0.4745 | 0.0761 |
| In den folgenden 15 Stunden . | 0.2508 | 0.1667 |
| Am zweiten Tage . . . . . . | 0.0604 | 0.0565 |
| Am dritten Tage . . . . . . | 0.0348 | 0.0308 |
| | Total 0.8205 | 0.3321 |

Die stark herabgesetzte Oxydation des Benzols im Organismus schon nach mässigen Alkoholdosen ist das Resultat von mindestens zwei verschiedenen Vorgängen. Die erste Ursache der die Oxydation herabsetzenden Wirkung des Alkohols liegt zunächst darin, dass Alkohol selbst in den Geweben verbrannt wird und folglich proportional zu dessen aufgenommener Menge den in den Geweben entstandenen atomistischen Sauerstoff absorbirt, wodurch natürlich weniger von dem letzteren zur Verbrennung anderer im Zellinhalt befindlicher Materien disponibel wird. Ich zweifle nicht daran, dass, wie in Folge von Alkoholgenuss weniger Benzol, so ebenfalls auch weniger Kohlehydrate, resp. ihre Spaltungsproducte und namentlich weniger Fette im Organismus oxydirt werden. In diesem Sinne, aber nur in diesem, ist Alkohol ein Nahrungsstoff. Dass für die Länge der Alkohol als Fettersatz in unserem Stoffwechsel nicht zulässig ist, soll weiter unten gezeigt werden.

Auf die einfachste Weise erklärt uns dieser Fettersatz durch Alkohol die Fettsucht der Trinker. Bekanntlich tritt bei Gewohnheitstrinkern eine abnorme Anhäufung von Fett in den Geweben auf. Dieses lagert sich in der Leber, in dem Unterhautzellgewebe, zwischen den einzelnen Muskeln und auf den einzelnen Organen um Herz, Nieren und Därme ab. Das Knochenmark wird fettreicher, während das Knochengewebe sich vermindert. Auch das Blutserum, wie von Huss [1]) angegeben wird, sei bei Personen, die an Delirium tremens litten, wegen des hohen Fettgehaltes milchig und opalisirend. Diese abnorme Fettablagerung giebt dem Trinker das blasswelke und aufgeschwemmte Aussehen; sie schwindet allmählich mit dem Eintritt der schweren Verdauungsstörungen und der interstitiellen Entzündung der Leber und der Nieren. Aus gleichem Grunde ist auch die vollständige Verbrennung der Spaltungsproducte der Eiweisskörper behindert und so erklärt sich die Anhäufung der Harnsäure in den Geweben, speciell in den Gelenken (die Gicht) bei Leuten, welche bei stickstoffreicher Nahrung auch Freunde der alkoholischen Getränke waren.

Die zweite Wirkung des Alkohols ist, ähnlich wie die des Aethers oder Chloroforms, eine die normalen Vorgänge im lebendigen Protoplasma hemmende, resp. die Erregbarkeit desselben direct lähmende. So beobachtete z. B. S. Danillo [2]), dass bei Hunden, die durch Verletzung der Hirnrinde künstlich epileptisch gemacht wurden, die epileptischen Anfälle sofort aufhörten, als man ihnen 2 g Alkohol per

[1]) Chronische Alkoholkrankheit etc. von Dr. Magnus Huss. Aus dem Schwedischen übersetzt von Dr. von dem Busch. Stockholm und Leipzig 1852.

[2]) Compt. rend. **49**, 1437.

Kilo Körpergewicht in 45 proc. Lösung in die Blutbahn injicirte. Auch die anatomischen Aenderungen in den zunächst der Alkoholeinwirkung ausgesetzten Organen sprechen dafür, dass Alkohol ähnlich wie Aether und Chloroform auf das lebendige Protoplasma zunächst lähmend und anästhesirend, bei längerer Einwirkung tödtend wirkt. So beobachtete Ebstein[1]), dass bei Hunden, welche während 3 bis 4 Tagen grössere Dosen verdünnten Alkohols erhielten, die Zellen der Magendrüsen trübe und granulirt wurden. In dem Lumen der Pylorusdrüsen war eine feinkörnige, gelbe bis gelbbräunliche Masse angehäuft und in den hochgradig veränderten Zellen zeigten sich deutliche Fetttropfen. Ebstein ist daher der Ansicht, dass selbst bei nicht zu langer Dauer der Alkoholeinwirkung der Untergang der vornehmlich betroffenen Partien des Zellenprotoplasmas in Folge fettiger Metamorphose eintritt. Bekanntlich ist ja auch der anhaltende Missbrauch alkoholischer Getränke die bei weitem häufigste Ursache des chronischen Magenkatarrhs und ebenso ist es bekannt, dass der Alkohol um so schädlicher einwirkt, je unverdünnter er getrunken wird, weshalb die Branntweintrinker am ehesten diese Krankheit acquiriren. Jedem von Ihnen sind die weiteren schädlichen Einwirkungen des Alkohols auf den Organismus bekannt, und es ist hier nicht der Ort, näher hierauf einzugehen. Die Lebercirrhose, die Erkrankung des Herzens, der Gefässe, der Nieren, des Gehirns und seiner Häute u. s. w. sind ja allgemein bekannt. Gegenüber diesen schädlichen Wirkungen auf sämmtliche Organe unseres Körpers ist der Nutzen desselben bei fortgesetztem Gebrauch, den man etwa aus dem Umstande ziehen könnte, dass Alkohol in unserem Organismus verbrannt wird, rein illusorisch.

Betonen will ich, dass ausser der erfrischenden und belebenden Wirkung, welche alkoholische Getränke bei nicht Gewohnheitstrinkern hervorrufen, gewiss sie auch die Verbrennung von Kohlehydraten und Fett in unserem Organismus ersparen. Am allerwenigsten geniessen wir aber Alkoholica aus dem letzteren Grunde, da ihr Preis wie Wärmeeffect gegenüber den anderen, normalen Nahrungsmitteln in keinem Verhältnisse steht. Dass Alkohol in unserem Organismus oxydirt wird und dadurch die Oxydation von Fett behindert, ist für Gewohnheitstrinker eher nachtheilig. Ein normaler und nothwendiger Bestandtheil jeder Zelle ist das Lecithin — ein Fettderivat. Wir haben Gründe, anzunehmen, dass ebenfalls das Cholesterin und die Gallensäuren aus dem Fett entstehen und es ist sehr wahrscheinlich, dass bei andauernder Behinderung des Fettumsatzes in unseren Zellen in Folge von Alkohol die Bildung dieser nothwendigen Bestandtheile unserer Gewebe gestört ist.

Aus allem Gesagten ersehen Sie, dass es vorwiegend zwei Umstände sind, wodurch der Alkohol unserem Organismus schädlich ist. Es ist dies erstens der chronische Gebrauch und zweitens die Concentration. Je öfter und concentrirter der Alkohol getrunken wird, um so mehr tritt sein respiratorischer Werth zurück und um so mehr tritt seine schädliche, das Protoplasma tödtende Wirkung hervor. Allerdings ist die Widerstandsfähigkeit, resp. Reproductivkraft in unserem Orga-

[1]) Virchow's Archiv **55**, 469.

nismus eine sehr grosse, weshalb auch die die Irritabilität des Protoplasmas lähmende Wirkung des Alkohols bei nicht zu häufigem Gebrauch eine rasch vorübergehende und ohne bleibenden Nachtheil ist. Bekanntlich sind ja stark alkoholreiche Getränke, wie Rum, Cognac u. dergl. m. wegen ihrer temperaturherabsetzenden Wirkung sogar geschätzte Arzneimittel.

Je stärker die Verdünnung, um so weniger treten die nachtheiligen Folgen des Alkohols hervor. Als ich als Student die Frerichs'sche Klinik in Berlin besuchte, pflegte Frerichs, so oft ein Fall von Lebercirrhose ex abus. spirit. vorgestellt wurde, zu sagen: Der Mann hat Branntwein getrunken, Wein und Bier machen Lebercirrhose nicht. Ich habe seither in der Schweiz, also einem Wein trinkenden Lande, wiederholt von verschiedenen Aerzten gehört, dass hier zu Lande Lebercirrhose durchaus nicht zu den Seltenheiten gehört. Genauere Erkundigungen haben mir aber ergeben, dass namentlich in der französischen Schweiz der Absinth, also ein sehr alkoholreicher Schnaps, nicht allein in enormen Mengen fabricirt und nach Frankreich exportirt, sondern auch an Ort und Stelle viel getrunken wird. Cirrhotische Lebererkrankung in Folge von ausschliesslichem Weingenuss ist mir nicht bekannt.

Bei den Schnapstrinkern, namentlich in den ärmeren Volksclassen, wirkt dieses Getränk nicht allein schädlich in Folge eines hohen Gehaltes an Aethylalkohol, sondern auch durch den Gehalt an dessen kohlenstoffreicheren Homologen, aus welchen der sogenannte Nachlauf — Fuselöl — besteht. Nach Rabuteau's [1]) Analysen sind eine ganze Reihe höherer Alkohole darin enthalten und zwar seinen quantitativen Bestimmungen zufolge enthält ein Liter Fuselöl:

| | |
|---|---|
| Isopropylalkohol | 150 |
| Propylalkohol | 30 |
| Gewöhnlichen Butylalkohol | 65 |
| Methylpropylcarbinol | 60 |
| Gewöhnlichen Amylalkohol | 275 |
| Producte, welche Amylalkohol zurückhalten und über 132° sieden | 170 |
| Wasser | 175 |
| Gemenge von Aldehyd, Essigsäureäthyläther und Aethylalkohol | 75 |
| | 1000 |

Die toxikologische Wirkung der meisten dieser Substanzen ist bis jetzt nicht bekannt. Nach den in Husemann's Toxikologie zusammengestellten Arbeiten über die physiologische Wirkung des Amylalkohols ist derselbe gegen den menschlichen Organismus schon in kleinen Dosen durchaus nicht indifferent. F. A. Cros sah, dass ein einziger Tropfen Amylalkohol, auf die Zunge gebracht, Uebelkeit und starke Vermehrung der Speichelsecretion hervorruft. 10 bis 15 cg führen beim Menschen in einigen Minuten Stirn- und Schläfenkopfschmerzen von kurzer Dauer herbei. Nach 4 g stellt sich ausserdem allgemeine Abgeschlagenheit ein, ferner Schwere der Augenlider, Aufstossen, Diarrhoe. Bei Dosen von 8 bis 10 g gesellen sich zu diesen Symptomen beschleunigte tiefe Respiration, grosse Angst, wiederholtes Erbrechen und längere Zeit anhaltende Mattigkeit. Aus den kürzlich

[1]) Compt. rend. **86**, 500.

publicirten Versuchen der Herren Dujardin-Beaumetz und Audigé[1]) geht ebenfalls hervor, dass der Gehalt an Fuselöl in alkoholischen Getränken die Gesundheitsschädlichkeit derselben wesentlich erhöht. Die genannten Autoren beschreiben ihre Versuche über chronischen Alkoholismus, welche sie an Schweinen anstellten. Den Thieren wurde zu ihrem Futter während drei Jahren täglich 1 bis 1.5 g Alkohol per Kilo Körpergewicht zugesetzt. Andere erhielten den Alkohol in Form von Absinth, 2.0 g per Kilo Körpergewicht. Die Trunkenheit äusserte sich bei Alkoholschweinen in Schlafsucht und Niedergeschlagenheit; bei den Absinthschweinen in offenbarer Erregtheit. Bemerkenswerth ist es, dass das Muskelgewebe der getödteten Thiere so massenhaft von Hämorrhagien durchsetzt war, dass der Verkauf des Fleisches von den Marktinspectoren verboten wurde.

Dujardin-Beaumetz und Audigé heben nun besonders hervor, dass, je weniger rectificirt der eingegebene Alkohol war, um so grösser sowohl die anatomischen Veränderungen der Organe als auch die Sterblichkeit der Thiere waren. Nicht rectificirter Korn-, Rüben- oder Kartoffelbranntwein haben die meisten Veränderungen hervorgerufen, während der letztere zehnfach rectificirt nur geringen Einfluss ausübte. Nach dreijähriger Fütterung erlagen zwei Schweine, welche Fusel erhalten hatten, dem Alkoholismus, während die anderen zu dieser Zeit noch der Vergiftung zu widerstehen schienen.

Wenn ich mich jetzt, meine Herren, zum zweiten Theile meines Vortrages wende, so erwarten Sie nicht etwa, dass ich Ihnen ein radicales Mittel zur Bekämpfung des Alkoholismus empfehlen werde. Die Alkoholfrage ist eine sehr complicirte. Wir können höchtens in Erwägung ziehen, welche von den bis jetzt gegen Trunksucht angewandten Mitteln im Allgemeinen von Erfolg gewesen sind und welche speciell für die Schweiz anzuwenden wären.

Es unterliegt keinem Zweifel, dass alkoholische Getränke für unsere Ernährung absolut entbehrlich sind. Sie sind nur Genussmittel, doch von einer so allgemeinen Beliebtheit und Verbreitung, dass nach meiner Ueberzeugung die Menschheit nie davon lassen wird. Es ist Thatsache, dass zu allen Zeiten und bei den verschiedensten Naturvölkern unabhängig von einander alkoholische Getränke bereitet und genossen werden. Ich bin daher der Ansicht, dass alle, sei es von Staats wegen, sei es von Privaten (Mässigkeitsvereine) gegen die Trunksucht ergriffenen Maassregeln, welche absolute Abstinenz von alkoholischen Getränken bezwecken, weder allgemein, noch von langer Dauer sein können. Die Gegner des Alkohols mögen sich wenigstens damit trösten, dass seine gesundheitsschädliche Wirkung lange nicht so gross ist, als wie die des Haschisch und des Opiums, der berauschenden Mittel der asiatischen Völker. Die Wein- und Spiritusfabrikation bildet in allen europäischen Staaten einen wesentlichen Bruchtheil der Landesproduction und folglich auch der Staatseinnahmen. Im Jahre 1875 wurden allein im Königreich Preussen 3 699 341 [2]) Hektoliter Spiritus von 50 Proc. Tralles fabricirt. Im Jahre 1876 seien in dem vereinigten Königreiche Grossbritannien folgende

[1]) Compt. rend. **96**, 1556.

[2]) Dr. A. Baer, Der Alkoholismus etc., Berlin 1878, S. 240.

Quantitäten [1]) alkoholischer Getränke consumirt worden: Britischer Spiritus Gall. 29 950 288; fremder Spiritus 11 487 795; Wein 18 660 846; Bier 113 444 751; britischer Wein 17 500 000; im Gesammtwerth von 147 288 759 Pf. Sterl. Nach einer Privatmittheilung des Herrn Jandschull, Professor der Finanzwissenschaften an der Universität in Moskau, wurden in ganz Russland im Jahre 1880 4 047 808 hl 96 proc. Spiritus fabricirt und davon nur 130 506 hl exportirt. Im Jahre 1879 erreichte in Russland die Branntweinsteuer (Accise- und Schanksteuer) die ungegeheure Summe von 212 894 777 Rubel. Dazu noch aus dem Königreiche Polen 14 133 572 Rubel, in Summa also über 227 Millionen Rubel. Durchschnittlich beträgt die Branntweinsteuer im russischen Reiche ein Drittel der Gesammtstaatseinnahmen.

Aus diesen wenigen statistischen Angaben, die sich Jeder leicht bezüglich anderer Länder vervollständigen kann, können Sie ersehen, einen wie wichtigen Factor die Spiritusfabrikation in der Industrie einzelner Länder ausmacht. Auch findet Alkohol in der Technik sehr mannigfaltige Anwendung, so in der Fabrikation von Potasche und Soda, in der Rübenzuckerfabrikation (Elutionsverfahren), in der Theerfarbenindustrie, zur Bereitung von Chloroform und Chloral, Herstellung von Knallquecksilber, in der Medicin, Parfümerie, Lackfirnissbereitung, als Brennspiritus u. s. w., und so wurden in Preussen, demjenigen Staate, wo der reinste Spiritus bereitet wird, schon im Jahre 1862 etwa 20 Proc. des producirten Alkohols für gewerbliche und technische Zwecke verwendet [2]).

So viel ist sicher, dass das Verbot der Alkoholproduction, wie es manche exaltirte Temperenzler verlangen, nur ein frommer Wunsch sein kann; abgesehen davon, dass die Durchführung dieses Principes mit der Wahrung der individuellen Freiheit sich kaum vereinigen lässt, da doch nicht das Trinken, sondern übermässiges Trinken dem Individuum und dem Gemeinwohl nicht zuträglich ist. Alle Maassregeln, die von Staats wegen gegen Trunksucht ergriffen werden können, können nur dahin gehen, den drei wesentlichen Momenten, welche die Gesundheitsschädlichkeit des Alkohols bewirken, entgegenzutreten. Sie müssen daher bezwecken, dass die alkoholischen Getränke 1. nicht zu häufig, 2. in nicht zu concentrirtem und 3. in möglichst reinem (fuselfreiem) Zustande zum Consum gelangen. Die letzte Bedingung ist die am leichtesten durchführbare und wird beispielsweise im Canton Bern ein Branntwein als gesundheitsschädlich verboten [3]), wenn derselbe kupfer-, blei- oder schwefelsäurehaltig ist, oder der Fuselgehalt darin so gross ist, dass der Branntwein beim Vermischen mit dem dreifachen Volumen destillirten Wassers eine deutlich blau schimmernde oder milchige Farbe annimmt. Bei den heutigen vervollkommneten Rectificationsmethoden sollte eigentlich jeder Gehalt an Amylalkohol als unzulässig erklärt werden.

Schon viel schwieriger ist die Durchführung der zweiten Forderung, dass der Alkohol nicht zu concentrirt getrunken werde. Die schlimmen Folgen der Trunk-

[1]) l. c. S. 189.

[2]) A. Baer, l. c. S. 237.

[3]) Verordnung, betreffend die Branntwein- und Spiritusfabrikation im Canton Bern vom 31. Mai 1879.

sucht machen sich hauptsächlich in den nordischen Ländern, wie England und Russland, geltend, wo wenig Wein und Bier und mehr Branntwein getrunken wird. Der nächstliegende Gedanke ist der, durch Begünstigung der Wein- resp. Bierfabrikation und Besteuerung des zum Consum gelangenden Spiritus, den ersteren Getränken mehr Allgemeinheit auf Kosten des letzteren zu verschaffen. Ein verdienstvoller Schriftsteller über den Alkoholismus, A. Baer[1], sagt, dass in den Ländern, in welchen Weinbau begünstigt und Wein getrunken wird, die Unmässigkeit sich nie zur allgemeinen Trunksucht der Bevölkerung entwickelt und nie sei hier der Alkoholismus von solcher Art, wie in denjenigen Ländern desselben Klimas, in denen die Bevölkerung den spirituösen Rauschmitteln ergeben ist. Das Hauptgetränk in Italien ist Wein. Spirituöse Getränke werden nur in sehr kleinen Mengen genossen und die Fabrikation und Verkauf desselben sei ganz freigegeben. Dabei sei die Trunksucht ausserordentlich selten und von keiner socialen Bedeutung, so dass Gesetzgebung und öffentliche Wohlfahrt sich um sie nicht zu kümmern brauchen. In Spanien und Portugal seien besonders die unteren Volksclassen von einer unglaublichen Mässigkeit. Das Laster der Trunksucht mit allen seinen üblen Folgen sei in Spanien fast unbekannt. Nur Fremde sieht man betrunken. In Griechenland ist Unmässigkeit weniger vorhanden als in irgend einem Theile der Welt. Frankreich galt früher als ein ausserordentlich mässiges Land, jetzt seien die Verhältnisse dort ganz anders geworden. In den Departements, wo kein Wein wächst, wird in grossen Mengen Branntwein getrunken und bekannt ist die Vorliebe der Franzosen für den Absinth.

In nordischen Ländern, wo der Weinbau ausgeschlossen ist, wäre es daher Sache der Regierungen, ausser Bierfabrikation noch die Obstzucht, sowie die Fabrikation des Trockenbeerenweines (vin de raisins secs) zu beschützen.

Wenden wir uns jetzt nach diesen allgemeinen Erörterungen zu dem concreten Falle, nämlich zu der in den einzelnen Cantonen der Schweiz, namentlich in Bern herrschenden Trunksucht, so könnte schon diese Erscheinung als solche für einen der Sache Fernstehenden etwas Befremdendes haben. Die Schweiz und speciell der Canton Bern sind entschieden zu den weintrinkenden Ländern zu zählen. Nach einer statistischen Zusammenstellung von A. Chatelanat[2]) war der Consum geistiger Getränke im Canton Bern im Jahre 1874 annähernd wie folgt:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Wein . . . . . . . . . | 256 904 hl | im Werthe von | 27 635 136 Frcs. |
| Branntwein und Liqueurs | 52 423 „ | „ „ | 3 675 031 „ |
| Bier . . . . . . . . . . | 163 940 „ | „ „ | 6 557 614 „ |

Es geht hieraus hervor, dass auch im Canton Bern der Wein das gebräuchlichste Getränk ist. Die Ursache, weshalb hier trotzdem von der ärmeren Bevölkerung viel Branntwein getrunken wird, liegt nach den übereinstimmenden Berichten und Gutachten in der begünstigten Stellung der Haus- oder Kleinbrennerei. Das Uebel ist nicht neu. Schon im Jahre 1835 beschloss die gemeinnützige Gesellschaft von Bern, die hiesige medicinische Gesellschaft auf das überhandneh-

[1]) Der Alkoholismus etc., S. 155.

[2]) Zeitschrift f. schweiz. Statistik, S. 137, Jahrg. 1876.

mende Branntweintrinken aufmerksam zu machen und sie um ihre Unterstützung zur Unterdrückung dieses Lasters anzugehen. Auf Veranlassung der medicinischen Gesellschaft wurde hierauf die von Dr. Lehmann verfasste und gekrönte Preisschrift „Ueber die nachtheiligen Folgen des übermässigen Genusses geistiger Getränke" veröffentlicht und verbreitet. Auf die zahlreichen Schriften von einzelnen Regierungen und Privaten, so von Junod, Bouchardat, Schild, Flugschriften der Mässigkeitsvereine u. dgl. m., kann ich hier nicht näher eingehen.

In Folge eines von Dr. O. Lindt im Jahre 1868 an die Direction des Innern erstatteten Gutachtens: „Ueber die Branntweinfabrikation im Canton Bern", wurde eine strengere Controle durch Sachverständige „die Reinheit des producirten Spiritus bezweckende" eingeführt. Aber bis auf den heutigen Tag ist damit der Vermehrung der kleinen Brennereien auf den einzelnen Bauernhöfen kein Einhalt gethan. Nach der jetzt zu Recht bestehenden Verordnung im Canton Bern vom 31. Mai 1879, Art. 32 kann die Fabrikation gebrannter geistiger Flüssigkeiten Jedermann betreiben, wofern er nicht mehr als 150 Liter in höchstens vierwöchentlicher Brenndauer brennen will. Dafür hat er bloss beim Regierungsstatthalter für die zu erhebende Bewilligung an Kanzleigebühr 5 Franken für das Brennen von Kartoffeln und Cerealien zu bezahlen.

Es ist mir wiederholt von zuverlässiger Seite versichert worden, dass gerade mit dieser nicht gewerbsmässigen Brennerei viel Missbrauch getrieben wird. Im Hause, wo Schnaps selbst bereitet wird, werde derselbe nicht allein von Erwachsenen in gesundheitsschädlicher Menge genossen, sondern auch Kindern zu trinken gegeben. Dazu kommt noch, dass häufig der kleine Producent seine Clienten statt mit Geld mit seinem Producte bezahlt. Aehnliche Verhältnisse wie hier bestanden bis zum Jahre 1863 in Finnland, das im Jahre 1809 mit Russland unter Personalunion vereinigt ist. Es galt dort das von Schweden hergebrachte Gesetz, dass ein Jeder, der Grund und Boden besass, in einer bestimmten Zeit, gegen eine vorher festgesetzte Steuer an den Staat, für den häuslichen Bedarf selbst Spiritus brennen durfte. Eine ganze Stadt oder Gemeinde konnte dieses einem Jeden zukommende Recht auf eine Fabrik gemeinschaftlich übertragen. Im Jahre 1863 wurde dieses Brennereirecht, das auch hier die Hauptursache für die Verbreitung einer excessiven Trunksucht geworden war, von den Ständen Finnlands abgeschafft. Der Bauernstand, der, allein im Besitz des Grund und Bodens, von diesem Rechte nur Gewinn hatte, entsagte freiwillig diesem Vorrecht, und seit 1865 ist die Branntweinproduction nur in eigens dazu concessionirten Fabriken erlaubt. Für die nächsten 5 Jahre bestimmt eine Ständeverordnung vom 9. Juni 1873, dass die Fabrikation von 4 300 000 Kannen Spiritus (1 K. = 2.62 Liter) für das ganze Land mit einer Bevölkerung von 1 800 000 Menschen per Jahr erlaubt ist. Die Regierung hat jedoch das Recht, diese festgesetzte Menge um 40 Proc. zu erhöhen; bisher ist aber die Fabrikation auf kaum 3 Millionen Kannen gestiegen. Diese und andere gesetzliche Maassnahmen haben die im Lande verbreitete Trunksucht beträchtlich herabgedrückt. Indessen ist durch die immer noch sehr grosse Zahl von Branntweinschänken in den Städten jene insbesondere unter den arbeitenden Classen in der Neuzeit wieder gestiegen. „Aus den Städten kehren die Landleute

nicht selten betrunken in ihre Dörfer zurück, und so üben jene einen üblen Einfluss auf die Umgegend mit aus [1])."

Es ist nicht zu bezweifeln, dass ein ähnliches Vorgehen des schweizerischen Volkes die Trunksucht im Lande vermindern würde; auch glaube ich nicht, dass das einen wirthschaftlichen Schaden zur Folge hätte. Der Einwand, dass das Brennen für den Landwirth ein werthvolles Nebengewerbe sei und er die Schlempe als Viehfutter schwer vermissen würde, ist nach meiner Ansicht ungerechtfertigt, da doch Kartoffeln wie Getreide für Menschen wie für Vieh mehr Nährgeldwerth haben als wie der daraus gewonnene Branntwein und Schlempe. Thatsächlich sind in allen, vorwiegend Landwirthschaft treibenden Ländern, wie namentlich in Preussen, mit der Entwickelung der Spiritusfabrikation zu einem Zweige der chemischen Grossindustrie, die kleinen Brennereien eingegangen, einfach weil die Betriebskosten ihnen die Concurrenz mit den grossen Spritfabriken unmöglich machen.

Unter den jetzigen Verhältnissen wird in der Schweiz viel mehr Alkohol verbraucht als producirt, so dass Spiritus einen wesentlichen Importartikel ausmacht.

Herr Director des eidg. statistischen Bureaus, Kummer, theilte mir hierüber Folgendes mit. „In den beiden Jahren 1881 und 1882 betrug im Durchschnitt die Einfuhr nach Abzug der Ausfuhr an 45 bis 50 proc. Branntwein 40 695 hl, an 95 proc. Weingeist 88 477 hl. Im Ganzen also auf 45 proc. Branntwein berechnet 217 649 hl. Die Summe des denaturirt eingeführten Weingeistes ist nicht angegeben.

Ich berechne daher die Einfuhr an Branntwein zu Genusszwecken auf rund 200 000 hl per Jahr. Die Schweiz selbst producirt aber jährlich an Branntwein circa 45 000 hl, an Weingeist circa 12 500 hl = 25 000 hl Branntwein; demnach im Ganzen nur etwa 70 000 hl 45 proc. Branntweins."

Sache der Regierungen wäre es, Industriezweige, welche geistige Getränke mit geringem Alkoholgehalt liefern, wie Bier, Wein, Obstzucht u. s. w., zu unterstützen. Auch Alkohol für technische Zwecke sollte möglichst niedrig besteuert werden. Producte aus Alkohol, deren Abnahme gesichert ist, wie z. B. Chloroform und Chloral, werden meines Wissens in der Schweiz gar nicht fabricirt. Dass mit der Anschaffung der Kleinbrennerei die Trunksucht in den einzelnen Cantonen gänzlich aufhören würde, ist kaum anzunehmen. Das seit mehr als einem halben Jahrhundert bekämpfte Uebel muss tiefere Wurzeln haben. Vielfach wird über den Export von Käse und condensirter Milch geklagt, wodurch dieses gesundeste aller Nahrungsmittel der Landbevölkerung entzogen wird. Nicht zu unterschätzen ist der Nutzen, den die Mässigkeitsvereine gegen die Trunksucht ausüben. Auf alle Fälle sollten die zu ergreifenden Maassregeln gemeinschaftlich von allen Cantonen geschehen und ich schliesse meinen Vortrag mit der richtigen Bemerkung Schild's [2]): „dass, wenn man im eigenen Cantone eine Ebbe an Schnaps eintreten lässt, man nicht dulden darf, dass das Land von den benachbarten Brennern mit diesem Getränke überfluthet werde."

[1]) Mittheilung des Prof. Hjelt in Helsingfors an Dr. A. Baer, citirt in dessen Buche „Ueber den Alkoholismus" S. 209.

[2]) Die Branntweinfrage, Bern 1864, S. 51.

# Ueber den Einfluss des Alkohols und des Morphiums auf die physiologische Oxydation

von

**N. Simanowsky** und **C. Schumoff.**

Pflüger's Archiv f. Physiol. **33**, 251. — Nach dem Referate von Prof. Gruber abgedruckt. Maly's Jahresber. **14**, 383.

Die Verff. suchten diesen Einfluss mit Hülfe der Methode von Nencki und Sieber [1]) festzustellen. Die Versuche wurden an Kaninchen, Hunden, ein Versuch am Menschen angestellt. Jedesmal wurde in einem Vorversuche die Menge des nach einer bestimmten Benzolgabe im Harn in der Norm ausgeschiedenen Phenols bestimmt. Einige Tage später wurde die gleiche Benzolgabe und gleichzeitig Alkohol oder Morphin gereicht und abermals das ausgeschiedene Phenol gemessen. — Die Versuche mit Alkohol ergaben ausnahmslos, dass diese Substanz die oxydirte Menge der durch atomistischen Sauerstoff in den Geweben verbrennbaren Substanzen herabsetzt, und zwar je nach Thierspecies, Individualität und Alhoholdosis um 50 bis 75 Proc. So schied ein 2320 g schweres Kaninchen nach Einnahme von 1 g Benzol normal 0.1898 g Phenol aus; nach gleichzeitiger Gabe von 0.3 g Alkohol pro Kilo 0.1346, nach 1.7 g Alkohol pro Kilo 0.1192, nach 3.4 g Alkohol pro Kilo 0.0845 g Phenol. — Ein 10 kg schwerer Hund schied in der Norm nach 1.0 g Benzol 0.1595 g Phenol aus, unter der Einwirkung von 2 g Alkohol pro Kilo 0.0772 g, bei einem zweiten gleichen Versuche 0.0731 g, während die Harnstoffausscheidung kaum merklich verändert war. Sie betrug 16.28 g im Mittel an den drei der Alkoholzufuhr vorhergehenden Tagen, an den drei unter dem Einfluss des Alkohols stehenden Tagen im Mittel 15.74 g (15.53, 19.70, 12.09), an den drei nachfolgenden Tagen 16.58 g im Mittel. — Ein 27 Jahre alter, 71.2 kg schwerer, an Alkohol nicht gewöhnter Mann nahm 2.0 g Benzol ein und schied darauf in den ersten 9 Stunden 0.4745, in den folgenden 15 Stunden 0.2508, in den zweiten 24 Stunden 0.0604, in den dritten 24 Stunden 0.0348, in toto 0.8205 g Phenol aus. Als er neben der gleichen Dosis Benzol 2.0 g Alkohol pro Kilo einnahm, durch welche ein „Rausch mittleren Grades" erzeugt wurde, schied er in den ersten 9 Stunden 0.0761, in den folgenden 15 Stunden 0.1667, in den zweiten 24 Stunden 0.0565, in den dritten 24 Stunden 0.0308, in toto 0.3301 g Phenol aus. Die durch Alkohol bewirkte Verminderung der Phenolbildung findet innerhalb der ersten 24 Stunden statt. Die Wirkung des Alkohols beruht zum Theil auf directer Hemmung der Vorgänge im Protoplasma, theils darauf, dass der Alkohol für seine eigene Oxydation atomistischen Sauerstoff in Anspruch nimmt und so andere verbrennliche Substanzen schützt. — Bei Behinderung der Respiration durch Compression der Trachea (nach Fränkel, Virchow's Archiv **67**, 273) sinkt die Oxydation

[1]) Pflüger's Archiv **31**, 319. — Dieser Band S. 683.

des Benzols zu Phenol auf ein Drittel der Norm. Ein 2580 g schweres Kaninchen schied nach Zufuhr von 1 g Benzol 0.284 resp. 0.248 g Phenol aus, bei behinderter Respiration nur 0.0765 g. Die unter gleichen Umständen auftretende Steigerung der Harnstoffausscheidung ist somit nicht etwa auf gesteigerte Oxydation, sondern wahrscheinlich auf Absterben von Protoplasma zu beziehen. — Morphin erhöht die Oxydation des Benzols; z. B. stieg bei dem oben aufgeführten Kaninchen von 2320 g die Phenolausscheidung von 0.1898 g auf 0.2210 g, als 0.02 g Morphium hydrochloratum gegeben wurden. Bei anderen Versuchen an Kaninchen war die Steigerung geringer. Einige Male trat eher eine eben erkennbare Verminderung ein. — Der 10 kg schwere Hund schied normal 0.1696 g Phenol nach der Gabe von 1 g Benzol aus; nach gleichzeitiger Gabe von 0.04 g salzsaurem Morphin 0.2228 g, nach 0.03 g salzsaurem Morphin 0.2131 g Phenol.

---

## Ueber das Condensationsproduct von β-Naphtol und Benzaldehyd

von

**W. Trzciński.**

Ber. **17**, 499. Eingegangen am 8. März; mitgetheilt in der Sitzung von Herrn Eug. Sell.

In meiner Mittheilung über die Melinoïntrisulfonsäure[1]) habe ich angegeben, dass dieselbe leicht beim Erwärmen mit concentrirter Schwefelsäure des aus β-Naphtol und Benzaldehyd erhaltenen Productes sich bildet. Dieses Product habe ich jetzt näher untersucht.

In seiner Darstellung wurden, wie früher, 3 Gewichtsthle. β-Naphtol und 1.5 Gewichtsthle. Benzaldehyd in 1.5 Gewichtsthln. Alkohol in der Wärme gelöst und hierauf mit 1 Gewichtthl. concentrirter Schwefelsäure allmählich versetzt. Das nach vollendeter Einwirkung abgeschiedene Product wird nach vier- bis fünfmaligem Umkrystallisiren aus Benzol rein erhalten; auch durch Umkrystallisiren aus Chloroform oder Schwefelkohlenstoff, worin der Körper sehr leicht löslich ist, kann er ebenfalls rein erhalten werden. Die auf die eine oder die andere Weise dargestellten Präparate schmolzen constant bei 190 bis 191° (uncorr.), verloren nach dem Trocknen im Exsiccator bei 110° nichts mehr an Gewicht und ergaben bei der Elementaranalyse Zahlen, die zu der empirischen Formel $C_{68}H_{46}O_2$ führen.

| | Gefunden: I. | Gefunden: II. | Für die obige Formel berechnet: |
|---|---|---|---|
| C | 89.46 | 90.04 | 89.67 Proc. |
| H | 5.24 | 5.29 | 5.05 „ |

I. Aus Chloroform umkrystallisirt.
II. Aus Benzol umkrystallisirt.

Der Körper krystallisirt in schönen, mikroskopischen, rhombischen Tafeln. In Alkohol und Aether ist er unlöslich; auch in wässeriger oder alkoholischer Kali-

[1]) Ber. **16**, 2835. — Dieser Band S. 712.

lauge löst er sich, selbst beim Kochen, nicht. Mit Essigsäureanhydrid gekocht löst er sich auf, krystallisirt aber beim Erkalten unverändert aus. Nach alledem scheint die Substanz keine freien Hydroxyle mehr zu enthalten.

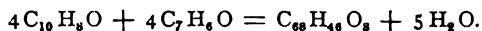
Bei der Einwirkung von Brom oder Chlor auf die Lösungen der Substanz entstehen, unter reichlicher Entwickelung von Brom- resp. Chlorwasserstoff, Substitutionsproducte. Leider konnte ich sie wegen ihrer grossen Unbeständigkeit nicht in für Analysen hinreichend reinem Zustande erhalten.

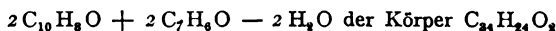
Mit concentrirter Schwefelsäure erhitzt, geht dieser Körper, wie schon früher angegeben, leicht in die Melinoïntrisulfonsäure über. Mit rauchender Salpetersäure auf dem Wasserbade erwärmt, löst sich der Körper leicht auf unter Bildung eines nitrirten Derivates, das durch Wasserzusatz als gelber, amorpher Niederschlag gefällt wird. Dieser Niederschlag wurde in heisser concentrirter Essigsäure gelöst, und das nach dem Erkalten abgeschiedene Product, das unter dem Mikroskop aus ganz homogenen, kugeligen Gebilden bestand, nach dem Trocknen analysirt. Die erhaltenen Zahlen stimmen ziemlich mit der Formel $C_{34}H_{17}(NO_2)_7O_2$ überein.

| Gefunden: | | Für die Formel $C_{34}H_{17}(NO_2)_7O_2$ berechnet: |
|---|---|---|
| C | 52.50 | 52.37 Proc. |
| H | 2.79 | 2.18 „ |
| N | 12.19 | 12.58 „ |

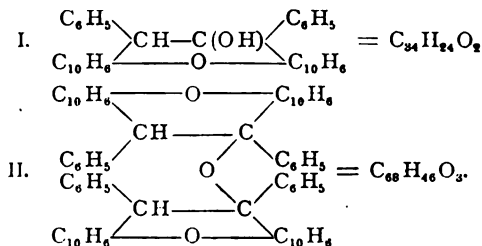
Wie die empirische Formel des Condensationsproductes aus β-Naphtol und Benzaldehyd zeigt, ist seine Zusammensetzung eine etwas andere als die des von Baeyer erhaltenen Körpers $C_{34}H_{26}O_3$ [1]). Allerdings wird von Baeyer nicht ausdrücklich angegeben, ob er sein Product aus α- oder β-Naphtol dargestellt hat. Wie ich gesehen habe, giebt α-Naphtol mit Benzaldehyd unter den gleichen Bedingungen wie β-Naphtol nur harzige Producte.

Meinen Analysen zufolge findet die Condensation zwischen Benzaldehyd und β-Naphtol nach folgender Gleichung statt:

$$4\,C_{10}H_8O + 4\,C_7H_6O = C_{68}H_{46}O_3 + 5\,H_2O.$$

Allem Anscheine nach verläuft die Reaction in zwei Phasen, indem zunächst entsprechend der Gleichung:

$$2\,C_{10}H_8O + 2\,C_7H_6O - 2\,H_2O \text{ der Körper } C_{34}H_{24}O_2$$

entsteht, dem auch die Zusammensetzung des Nitroproductes entsprechen würde. In der zweiten Phase würde unter Austritt von einem Molekül Wasser aus zwei Molekülen der obigen Verbindung der Körper $C_{68}H_{46}O_3$ resultiren. Die wahrscheinlichste Constitution dieser Verbindungen lässt sich auf folgende Weise veranschaulichen:

```
     C6H5\            /C6H5
I.        >CH—C(OH)<          = C34H24O2
     C10H6/——————O——————\C10H6

     C10H6——————O——————C10H6
          \              /
           CH —————— C
          /         /    \
     C6H5          O      C6H5
II.                                = C68H46O3.
     C6H5          O      C6H5
          \         \    /
           CH —————— C
          /              \
     C10H6——————O——————C10H6
```

1) Ber. 5, 281.

Es verläuft also die Condensation zwischen $\beta$-Naphtol und Benzaldehyd, was die Zahl der auf einander reagirenden Moleküle des Aldehyds und Naphtols betrifft, analog den von Baeyer beschriebenen Condensationen der Aldehyde mit Phenolen [1]) (Benzaldehyd und Pyrogallussäure, Salicylaldehyd und Pyrogallussäure, Benzaldehyd und Naphtol), ferner der von Michael angegebenen Benzaldehydresorcinharzbildung [2]) und der von mir beobachteten Melinoïnbildung (resp. seiner Sulfonsäure).

In allen diesen Fällen tritt Condensation einer gleichen Anzahl Moleküle aromatischer Aldehyde und Phenole unter Austritt wechselnder Moleküle Wasser ein, im Gegensatz zu den von Etti [3]) angegebenen Condensationen des Vanillins und der Oxyaurinbildung [4]).

Bern, Laboratorium des Prof. Nencki.

# Ueber die Einwirkung von Chlorzink auf Salicyl- und Paraoxybenzaldehyd

von

A. Bourquin.

Ber. 17, 502 (Eingegangen am 8. März; mitgetheilt in der Sitzung von Herrn Eug. Sell.)

Anlässlich der Untersuchungen über die Condensation der aromatischen Aldehyde mit Phenolen, welche in der letzten Zeit im hiesigen Laboratorium ausgeführt wurden, war es von Interesse zu erfahren, wie die beiden Oxybenzaldehyde selbst gegen wasserentziehende Mittel sich verhalten würden. Ich hahe daher auf Wunsch von Professor Nencki die Condensationsproducte, welche aus den beiden obigen Aldehyden, beim Erhitzen mit Eisessig und Chlorzink entstehen, dargestellt und analysirt. Zu dem Zweck wurden 3 Gewichtsthle. Chlorzink in 2 Gewichtsthln. käuflichen Eisessigs in der Wärme gelöst, zu der Lösung 1 Gewichthl. Salicylaldehyd zugesetzt und die Schmelze kurze Zeit im Sieden, bei etwa 145°, erhalten. Längeres Kochen ist zu vermeiden, da sonst Salicylaldehyd leicht verharzt. Nach einigen Minuten, sobald eine herausgenommene Probe durch Wasserzusatz in rothen Flocken abgeschieden wird, lässt man erkalten, giesst die Schmelze in viel Wasser und wäscht den abgeschiedenen rothen Niederschlag auf dem Filter gut aus. Zur weiteren Reinigung wurde das Product in verdünnter (etwa 2 Proc.) Natronlauge gelöst und in die schön violette Lösung schweflige Säure eingeleitet. Anfangs wird dadurch der Farbstoff gefällt; sobald jedoch schweflige Säure im Ueberschuss eingeleitet wird, löst sich der Farbstoff von Neuem mit rother Farbe auf. Die Lösung wurde jetzt filtrirt, der Farbstoff aus dem Filtrate durch Salzsäure gefällt und mit

[1]) Ber. 5, 281.
[2]) Ebenda 17, 21 (Referat).
[3]) Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. 86, II. Abth., Jahrg. 1882, S. 557.
[4]) Ber. 16, 2841.

Wasser ausgewaschen. Dieses so bereitete Condensationsproduct des Salicylaldehyds ist ein hellrothes, amorphes Pulver, unlöslich in Wasser, verdünnten Säuren, Aether und Chloroform; löslich in Alkohol, namentlich in der Wärme; leicht löslich in fixen und kohlensauren Alkalien mit violettrother Farbe. Zur Elementaranalyse wurde das nach dem Reinigen mit Natronbisulfit mit Salzsäure gefällte, bei 100° getrocknete Präparat verwendet. Die erhaltenen Zahlen entsprechen der Formel $C_{14}H_{10}O_3$.

| | Gefunden: I. | II. | Ber. für $C_{14}H_{10}O_3$: |
|---|---|---|---|
| C | 74.40 | 74.47 | 74.34 Proc. |
| H | 4.66 | 4.69 | 4.42 „ |

Mit Essigsäureanhydrid giebt dieser Körper ein Acetylderivat, das auf folgende Weise dargestellt wurde: 3 g des Farbstoffs wurden mit 12 g Essigsäureanhydrid 1½ Stunden lang am Rückflusskühler gekocht, sodann die heiss filtrirte Lösung mit dem dreifachen Volumen absoluten Alkohols vermischt, wobei das entstandene Acetylproduct als ein gelber, voluminöser, amorpher Niederschlag sich abscheidet. Dieser Niederschlag, gut mit Alkohol ausgewaschen und bei 100° getrocknet, ergab mit der Formel $C_{14}H_9O_3(C_2H_3O)$ übereinstimmende Zahlen.

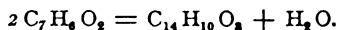
| | Berechnet: | Gefunden: |
|---|---|---|
| C | 71.49 | 71.64 Proc. |
| H | 4.69 | 4.69 „ |

In Wasser, Alkohol, Aether und Benzol ist diese Substanz unlöslich, dagegen löst sie sich ziemlich leicht in Chloroform. Von Alkalien wird sie ebenfalls leicht gelöst, doch tritt gleichzeitig Verseifung ein, so dass durch Säurezusatz nur die Verbindung $C_{14}H_{10}O_3$ in rothen Flocken ausgefällt wird.

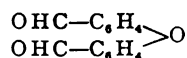
Paraoxybenzaldehyd verhält sich gegen in Eisessig gelöstes Chlorzink beim Erwärmen genau so wie Salicylaldehyd. Das durch Wasser abgeschiedene Reactionsproduct bildet ebenfalls rothe amorphe Flocken, die in Alkohol sowie in Alkalien mit violetter Farbe löslich sind und daraus durch Säuren unverändert abgeschieden werden. Von dem aus Salicylaldehyd erhaltenen Condensationsproducte unterscheidet sich dagegen dieser Farbstoff dadurch, dass er in Alkalibisulfit sich nicht löst und weder durch Chloracetyl noch durch Essigsäureanhydrid acetylirt wird. Seine Zusammensetzung entspricht ebenfalls der empirischen Formel $C_{14}H_{10}O_3$.

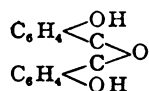
| | Gefunden: | Berechnet: |
|---|---|---|
| C | 74.40 | 74.37 Proc. |
| H | 4.61 | 4.42 „ |

Die Condensation dieser beiden aromatischen Oxyaldehyde unter dem Einflusse von Chlorzink geschieht demnach nach der Gleichung:

$$2\,C_7H_6O_2 = C_{14}H_{10}O_3 + H_2O.$$

Wie man sieht, sind die beiden Condensationsproducte sowohl dem Benzoylsalicylaldehyd, $C_6H_5—CO—O—C_6H_4—COH$, als auch der von Ettling, Cahours und Perkin dargestellten und von dem letzteren Autor als Disalicylwasserstoff bezeichneten Verbindung isomer. Perkin[1]) nimmt an, dass dem Disalicylwasserstoff die Constitutionsformel:

[1]) Ann. Chem. Pharm. **145**, 300.

$$\begin{array}{l} OHC—C_6H_4 \\ OHC—C_6H_4 \end{array}\!\!>\!O$$

zukommt. Unter der Voraussetzung, dass die einfachste aus den Analysen berechnete Formel $C_{14}H_{10}O_3$ die wahre Zusammensetzung der von mir aus Salicyl- resp. Paraoxybenzaldehyd mittelst Chlorzink erhaltenen Körper ausdrückt, was vorläufig als unbewiesen hingestellt werden muss, könnte man annehmen, dass die Condensation zweier Aldehydmoleküle unter Austritt von einem Molekül Wasser zur Bildung einer glycidartigen Verbindung führe und dass vielleicht den von mir analysirten Producten die Constitutionsformel:

$$\begin{array}{l} C_6H_4\!<\!\begin{array}{l}OH\\C\end{array} \\ \qquad\qquad >O \\ C_6H_4\!<\!\begin{array}{l}C\\OH\end{array} \end{array}$$

entspricht.

Leider sind die beiden Verbindungen wenig reactionsfähig, und es gelang mir nicht, mittelst Brom, Chlor oder Salpetersäure gut charakterisirbare Derivate darzustellen.

Bern, Laboratorium des Prof. Nencki.

---

# Ueber Muscarin

von

J. Berlinerblau.

Ber. 17, 1139. Nach dem Referate von Prof. Andreasch abgedruckt. Maly's Jahresber. 14, 88.

Schmiedeberg (Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 6, 101) schreibt dem aus Neurin[1]) durch Oxydation künstlich darstellbaren Muscarin die Constitution $(CH_3)_3NOH—CH_2—CH(OH)_2$ zu; um die Richtigkeit dieser Formel zu prüfen, hat Verf. durch Einwirkung von Monochloracetal auf Trimethylamin eine neue Synthese des Muscarins versucht. Beide Körper reagiren beim Erhitzen im Rohr im Sinne folgender Gleichung: $N(CH_3)_3 + ClCH_2–CH(OC_2H_5)_2 = (CH_3)_3ClN–CH_2–CH(OC_2H_5)_2$, der gebildete Körper wäre somit als Muscarinäther zu bezeichnen. Gleichzeitig entsteht eine Base $(CH_3)_3ClN—CH_2—CHO$, die auch durch Verseifung der ersteren erhältlich ist, und welche sich vom Muscarin durch das Fehlen von 1 Molekül Wasser unterscheidet. Nach Versuchen von Prof. Luchsinger stimmen sowohl der Muscarinäther wie die Aldehydbase in ihrer Wirkung qualitativ fast vollständig mit der des natürlichen Muscarins überein, nur wirkt der Muscarinäther bedeutend schwächer. Weitere Untersuchungen werden in Aussicht gestellt.

[1]) Verf. bezeichnet das Trimethyloxäthylammoniumoxydhydrat als „Neurin" im Gegensatze zu Brieger (Ueber Ptomaïne), der dasselbe mit dem Namen Cholin belegt und unter Neurin die entsprechende, um 1 Molekül Wasser ärmere Vinylbase versteht.

# Ueber die Rhodaninsäure

von

**M. Nencki.**

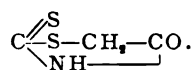
Ber. **17**, 2277. (Eingegangen am 8. October; mitgetheilt in der Sitzung von Herrn A. Pinner.)

Vor mehreren Jahren [1]) habe ich die Einwirkung der Chloressigsäure auf Sulfocyansäure, sowie ihre Salze untersucht und gefunden, dass beim Eindampfen der wässerigen Lösungen der freien Sulfocyansäure und Monochloressigsäure auf dem Wasserbade die Carbaminsulfoglycolsäure gebildet werde, entsprechend der Gleichung:

$$CNSH + C_2H_3ClO_2 + H_2O = NH_2{-}CO{-}S{-}CH_2{-}COOH + ClH.$$

Beim Erwärmen dagegen von wässerigen Lösungen der Chloressigsäure und Rhodanammonium entsteht unter stürmischer Reaction eine schön krystallisirende Verbindung von der Zusammensetzung: $C_3H_3NS_2O$, von mir Rhodaninsäure genannt. Die Bildung der Rhodaninsäure formulirte ich folgendermaassen:
$(CNS.NH_4)_2 + C_2H_3ClO_2 + H_2O = C_3H_3NS_2O + 3NH_3 + CO_2 + ClH$;
und, gestützt auf die Eigenschaften der Rhodaninsäure und ihre Reactionen, betrachtete ich sie als eine ätherartige Verbindung von Sulfoglycolsäure und Sulfocyansäure $= HS{-}CH_2{-}CO{-}S{-}CN$.

Nun hat Liebermann [2]) in seinen theoretischen Betrachtungen über die Constitution der Sulfohydantoïne und der Sulfuretane, auch bezüglich der Rhodaninsäure die Ansicht ausgesprochen, dass sie nicht als eine ätherartige Verbindung der Sulfocyansäure aufzufassen sei und formulirte ihre molekulare Zusammensetzung durch folgende Structurformel:

$$C\begin{cases} {=}S \\ {-}S{-}CH_2{-}CO \\ {-}NH{-}\text{———}\lrcorner \end{cases}.$$

Die Liebermann'sche Formel der Rhodaninsäure schliesst die Gegenwart der Sulfocyangruppe darin aus. Ich habe aber schon damals gesehen, dass Rhodaninsäure, mit verdünnten Alkalien erwärmt, hernach angesäuert und mit Eisenchlorid versetzt, die für Sulfocyansäure charakteristische Rothfärbung zeigte, weshalb ich auch die Liebermann'sche Structurformel für unrichtig hielt. Durch andere, mich mehr interessirende Arbeiten jedoch in Anspruch genommen, habe ich die genauere Untersuchung der Spaltungsproducte der Rhodaninsäure bis in die letzte Zeit verschieben müssen. Die Liebermann'sche Formel der Rhodaninsäure ist inzwischen in die Lehrbücher übergegangen. So finde ich sie z. B. in dem Handbuch von Beilstein. Im verflossenen Sommer habe ich meinen Assistenten, Herrn Dr. Bourquin, veranlasst, die Spaltungsproducte der Rhodaninsäure bei der Hy-

[1]) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **16**, 1. — Dieser Band S. 275.

[2]) Ber. **12**, 1594.

dratation, sowie auch die inzwischen von mir beobachteten Verbindungen der Rhodaninsäure mit Aldehyden genauer zu untersuchen. Ich erlaube mir nun im Folgenden kurz die von Herrn Bourquin erhaltenen Resultate mitzutheilen, ausführlicher sind sie in seiner Doctordissertation [1]) beschrieben.

### Die Benzyliden- und Aethylidenrhodaninsäure.

Die Benzylidenrhodaninsäure wird zweckmässig auf folgende Weise bereitet: 10 g Rhodaninsäure werden in der fünffachen Menge 90 proc. Alkohols gelöst, die Lösung mit 30 g concentrirter Schwefelsäure vermischt und hierauf auf dem Wasserbade mit 15 g Benzaldehyd unter Umrühren allmählich versetzt. Beim Erkalten, sofort aber nach Wasserzusatz, scheidet sich das neue Product in gelben Nadeln aus, welche abfiltrirt und mit Wasser bis zur vollständigen Entfernung der Schwefelsäure ausgewaschen werden. Mehrfach aus heissem Wasser umkrystallisirt, schmilzt die Substanz constant bei 200° (uncorrigirt). Die Elementaranalysen führten zu der Formel $C_{10}H_7NS_2O$, wie aus folgender Zusammenstellung ersichtlich.

| | Theorie: | Gefunden: | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{10}$ | 54.29 | 54.60 | 54.70 | Proc. |
| $H_7$ | 3.16 | 3.65 | 3.63 | „ |
| N | 6.34 | 6.47 | — | „ |
| $S_2$ | 28.96 | 29.12 | 28.54 | „ |

Die Bildung der Rhodaninsäure geschieht demnach nach der Gleichung: $C_3H_3NS_2O + C_6H_5CHO = C_{10}H_7NS_2O + H_2O$.

Die Ausbeute beträgt mehr als 90 Proc. der theoretisch berechneten Menge. Die Benzylidenrhodaninsäure giebt mit Alkalien krystallinische Salze, die jedoch nur in concentrirten Alkalien schwer löslich, in Wasser und Alkohol dagegen zerfliesslich sind, weshalb es nicht möglich war, sie frei von überschüssigem Alkali zu erhalten. Die alkoholische Lösung der Säure, mit ammoniakalischer Silberlösung vermischt, giebt einen gelbgrünen amorphen Niederschlag, der sich beim Trocknen ein wenig schwärzt und dessen Zusammensetzung der Formel $C_{10}H_6AgNS_2O$ entspricht. Auch mit Blei giebt die Benzylidenrhodaninsäure ein in Wasser unlösliches amorphes Salz.

Aethylaldehyd oder Aldehydammoniak giebt mit Rhodaninsäure eine der Benzylidenrhodaninsäure analoge Verbindung. Sie wird auf folgende Weise bereitet: 1 Gewichtsthl. Aldehydammoniak und 1 Gewichtsthl. Rhodaninsäure werden in der dreifachen Menge warmen, 90 proc. Alkohols aufgelöst, hierauf mit 4 Gewichtsthln. roher Salzsäure versetzt und auf dem Wasserbade erwärmt. Nach vollendeter Einwirkung wird die Flüssigkeit mit viel Wasser gemischt, wobei das neue Product in feinen gelben Nadeln sich abscheidet. Die Krystalle werden abfiltrirt und mit Wasser ausgewaschen. Auch hier wird die Aethylidenrhodaninsäure erst nach mehrmaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser rein erhalten. Die Substanz, die ebenfalls die Eigenschaften einer Säure besitzt, ist in kaltem Wasser sehr wenig löslich, etwas mehr in heissem, leicht in Alkohol, Aether und verdünnten

[1]) Inauguraldissertation. Bern 1884.

Alkalien, woraus sie durch stärkere Säuren unverändert abgeschieden wird. Im Capillarrohr schmilzt sie bei 147 bis 148° C. Der Formel $C_6H_5S_2NO$ entspricht die Bildungsgleichung Rhodaninsäure + Aethylaldehyd — Wasser.

| | Theorie: | Gefunden: | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_5$ | 37.73 | 37.4 | 38.16 | Proc. |
| $H_5$ | 3.14 | 3.45 | 3.25 | " |
| $S_2$ | 40.25 | 40.37 | 40.65 | " |
| N | 8.88 | 8.90 | — | " |
| O | 10.00 | — | — | " |

Eine alkoholische Lösung der Aethylidenrhodaninsäure, mit alkoholischer Bleizuckerlösung vermischt, giebt einen gelben, amorphen Niederschlag, der ausgewaschen und getrocknet 39.54 Proc. Blei enthielt. Die Formel $(C_5H_4NS_2O)_2Pb$ verlangt 39.57 Proc. Blei.

Schon durch kurzes Erwärmen mit Alkalien wird sowohl die Aethyliden- wie die Benzylidenrhodaninsäure zersetzt, wobei unter Aufnahme von Wasser Aethylaldehyd resp. Benzaldehyd regenerirt werden. Gleichzeitig wird auch die Rhodaninsäure durch Alkali in die weiter unten zu beschreibenden Producte zersetzt. Auch Salicylaldehyd, sowie Paraoxybenzaldehyd geben ebenfalls krystallisirende Condensationsproducte, wenn sie mit Rhodaninsäure in alkoholischer Lösung und concentrirter Schwefelsäure erwärmt werden. Diese Producte wurden jedoch nicht analysirt.

## Die Spaltungsproducte der Rhodaninsäure.

Mit Wasser im offenen Gefässe längere Zeit gekocht, bleibt Rhodaninsäure unverändert. Wird sie jedoch im zugeschmolzenen Rohr auf höhere Temperatur erhitzt, so findet nach mehreren Stunden vollkommene Zersetzung statt. 3 bis 4 g Rhodaninsäure wurden mit dem dreifachen Gewichte destillirten Wassers im zugeschmolzenen Rohr auf 200° erhitzt. Nach 3 bis 4 Stunden ist die Rhodaninsäure zersetzt und die fast farblose Flüssigkeit enthält keine ungelösten Bestandtheile mehr.

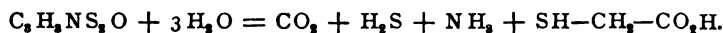
Beim Aufblasen des Rohres bemerkt man einen starken Druck, es entweicht ein farbloses, höchst unangenehm und stark riechendes Gas, dessen Geruch an Schwefelwasserstoff und Mercaptan erinnert. Um genau die Zusammensetzung des Gases zu kennen, haben wir in einer zweiten Operation das Einschmelzrohr zuerst in einer Kältemischung von Eis und Kochsalz gut abgekühlt, die Capillarspitze mit einem Kautschukschlauch überzogen und nach dem Abbrechen der Spitze die entweichenden Gase in eine klare, frisch bereitete Barytlösung geleitet. Das entweichende Gas trübte stark das Barytwasser, als Zeichen vorhandener Kohlensäure. Der Niederschlag übrigens, abfiltrirt und mit Salzsäure behandelt, löste sich darin unter Aufbrausen. Das Barytwasser, mit essigsaurem Blei vermischt, gab sogleich einen Niederschlag von Schwefelblei. Wir erwarteten ebenfalls die Gegenwart der Blausäure, wir erhielten jedoch bei der Behandlung der Flüssigkeit mit Eisenoxyduloxyd kein Berliner Blau.

Die Flüssigkeit im Rohre giebt schon in der Kälte, mit Natronlauge versetzt, reichlich Ammoniak. Andererseits wird eine Probe der Flüssigkeit mit Eisenchlorid

tief dunkelroth, welche Färbung nach Zusatz von Ammoniak ins Violette übergeht. Es ist dies nach der Beobachtung von Andreasch [1]) eine speciell für die Sulfoglycolsäure charakteristische Reaction. Die Flüssigkeit, worin sich voraussichtlich sulfoglycolsaures Ammon befand, wurde mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und wiederholt mit Aether extrahirt; die ätherische Lösung hinterliess eine syrupöse Flüssigkeit. Dieser syrupöse Rückstand wurde zunächst mit Wasser verdünnt, mit Essigsäure angesäuert und hierauf durch Erhitzen mit Bleilösung in das in weissen Prismen krystallisirende Bleisalz verwandelt, das, wie zu erwarten war, das basische Salz der Sulfoglycolsäure war. Der abfiltrirte und ausgewaschene Niederschlag, über Schwefelsäure getrocknet, gab bei der Verbrennung folgende Zahlen:

| | Gefunden: | Ber. für $C_2H_2SO_2Pb$: |
|---|---|---|
| C | 8.36 | 8.08 Proc. |
| H | 0.83 | 0.67 „ |
| Pb | 69.26 | 69.69 „ |

Es unterliegt demnach keinem Zweifel, dass Rhodaninsäure, mit Wasser unter Druck bei 200° C. erhitzt, der Hauptsache nach nach folgender Gleichung zerfällt:

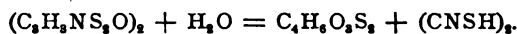
$$C_3H_3NS_2O + 3H_2O = CO_2 + H_2S + NH_3 + SH{-}CH_2{-}CO_2H.$$

Von Alkalien wird die Rhodaninsäure sehr leicht zersetzt. Wir haben wie folgt operirt: 10 g Rhodaninsäure wurden mit dem 20fachen Gewichte 10proc. Kalilauge auf dem Wasserbade erwärmt. Sobald die Flüssigkeit etwa 80° erreicht hat, ist in derselben schon nach kurzer Zeit keine Rhodaninsäure mehr nachweisbar. Wir haben daher die Lösung nur so lange erwärmt, bis in einer herausgenommenen und angesäuerten Probe beim Kochen mit Eisenchlorid kein Farbstoff mehr gebildet wurde. Bei dieser Zersetzung der Rhodaninsäure entsteht weder Schwefelwasserstoff noch Ammoniak. Die Lösung wurde jetzt genau mit verdünnter Schwefelsäure neutralisirt und auf dem Wasserbade bis zur Trockne eingedampft, der Rückstand, aus schwefelsaurem Kali und den organischen Kalisalzen bestehend, mit heissem, absolutem Alkohol digerirt und filtrirt. Aus dem braunrothen Filtrat krystallisirt an der Wand des Gefässes in festen Krusten das Kalisalz einer neuen Säure, während das zweite Spaltungsproduct, nämlich Rhodankalium, in der Lösung bleibt. Die abgeschiedenen Krystalle wurden mit kaltem Alkohol vollkommen ausgewaschen, filtrirt und über Schwefelsäure getrocknet. Die farblosen Krystalle sind in Wasser leicht löslich, enthalten Schwefel, aber keinen Stickstoff und geben mit Eisenchlorid keine Farbenreaction.

Die von den Krystallen des stickstofffreien Kalisalzes abfiltrirte Lauge zeigt mit Eisenchlorid eine intensive Rhodanreaction und bei hinreichendem Verdunsten auf dem Wasserbade hinterbleibt ein hygroskopisches, in rhombischen Säulen krystallisirendes Kalisalz, das nach drei- bis viermaligem Umkrystallisiren aus absolutem Alkohol zwar nicht ganz farblos erhalten wurde, hingegen durch die Elementaranalyse, Auftreten des Geruchs nach Sulfocyansäure beim Erwärmen mit Mineralsäuren, Bildung von Persulfocyansäure, Darstellung des sulfocyansauren Bleies,

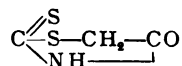
[1]) Berichte **12**, 1385.

sowie endlich die Eisenchloridreaction hinreichend als Rhodankalium charakterisirt wurde. Auch die Kalium- und Schwefelbestimmung in dem Producte ergab mit der Formel des Rhodankaliums übereinstimmende Zahlen. Gefunden K 39.73, S 32.64 Proc. Berechnet für CSNK 40.20 Proc. K und 32.98 Proc. S.

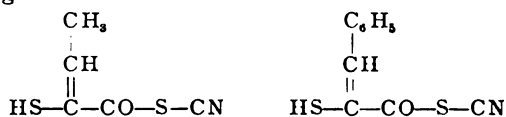
Nicht so leicht konnte die Zusammensetzung des in Alkohol schwer löslichen, stickstofffreien Kalisalzes ermittelt werden. Aus den Analysen desselben, sowie des daraus dargestellten Blei- und Kalksalzes geht mit grosser Wahrscheinlichkeit hervor, dass die freie Säure nach der Formel $C_4H_6S_2O_3$ zusammengesetzt, d. h. ein Anhydrid der Sulfoglycolsäure $\left(\begin{matrix} SH-CH_2-CO \\ SH-CH_2-CO \end{matrix}>O\right)$ ist. Die Zersetzung der Rhodaninsäure durch Alkalien wird dann durch folgende Gleichung veranschaulicht:

$$(C_3H_3NS_2O)_2 + H_2O = C_4H_6O_3S_2 + (CNSH)_2.$$

Ich behalte mir vor, die genauere Beschreibung dieser Säure sowie ihrer Salze in der nächsten Zeit zu bringen.

Ueberblickt man die erhaltenen Resultate, so beweist zunächst die Thatsache, wonach schon durch gelindes Erwärmen mit Alkalien aus der Rhodaninsäure die Schwefelcyansäure abgespalten werden kann, dass in der Rhodaninsäure zweifellos die Sulfocyangruppe enthalten sein muss. Berücksichtigt man ferner, dass die Rhodaninsäure, mit Wasser auf 200° erhitzt, glatt in Sulfoglycolsäure, Kohlensäure, Schwefelwasserstoff und Ammoniak zerfällt, und ferner bei der Zersetzung mittelst Alkalien ausser Sulfocyansäure aller Wahrscheinlichkeit nach nur das Anhydrid der Sulfoglycolsäure entsteht, so ergiebt sich mit ziemlicher Sicherheit, dass die Rhodaninsäure die Structurformel $HS-CH_2-COS-CN$ haben muss und folglich die Liebermann'sche Annahme, es sei die Rhodaninsäure nach der Formel

$$C\begin{matrix} /\!\!/ S \\ -S-CH_2-CO \\ \diagdown NH\text{------}\lrcorner \end{matrix}$$

zusammengesetzt, unrichtig ist.

Die Molekularstructur der aldehydischen Derivate der Rhodaninsäure ergiebt sich daraus wie folgt:

$$\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ CH \\ \| \\ HS-C-CO-S-CN \end{matrix} \qquad \begin{matrix} C_6H_5 \\ | \\ CH \\ \| \\ HS-C-CO-S-CN \end{matrix}$$

Bern, im September 1884.

# Ueber das Eiweiss der Milzbrandbacillen

von

**M. Nencki.**

Ber. **17**, 2605. (Eingegangen am 10. Nov.; mitgetheilt in der Sitzung von Herrn A. Pinner.) — Polnisch Gazeta Lekarska Nr. 34.

Die Erforschung der chemischen Zusammensetzung der Spaltpilze hat mich schon früher beschäftigt und ich habe gemeinschaftlich mit Herrn Dr. Schaffer vor mehreren Jahren die Resultate unserer Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung der Fäulnissbacterien veröffentlicht [1]. Wir haben gesehen, dass die Leibessubstanz der auf zweiprocentiger Gelatine unter Zusatz von etwas Pankreassaft bei Luftzutritt gezüchteten Bacterien hauptsächlich aus Eiweiss besteht. So haben wir ihre Zusammensetzung, auf Trockensubstanz bezogen, in den verschiedenen Entwickelungsstadien wie folgt gefunden:

| | I. Zooglöamasse | II. Zooglöamasse und Bacterien | III. Reife Bacterien |
|---|---|---|---|
| Eiweiss | 85.76 Proc. | 87.46 Proc. | 84.20 Proc. |
| Fett | 7.89 „ | 6.41 „ | 6.04 „ |
| Asche | 4.20 „ | 3.04 „ | 4.72 „ |
| Cellulose und andere organische Materien | 2.15 „ | 3.09 „ | 5.04 „ |

Die reifen von uns analysirten Bacterien waren unter dem Mikroskope durchaus homogen und gestützt auf die letzthin publicirten Untersuchungen von Berthold Bienstock [2], wonach die Eiweissfäulniss durch eine ganz specifische Bacillenspecies bewirkt werde, bin ich der Ansicht, dass die von uns analysirten Stäbchen nur eine Species und kein Gemenge mehrerer waren.

Im verflossenen Sommer habe ich diese Untersuchungen von Neuem aufgenommen. Unter Benutzung der Reinculturmethoden habe ich zunächst Milzbrandbacillen völlig frei von anderen Mikroorganismen gezüchtet. Für diese Culturen im kleinen Maassstabe haben sich als sehr zweckmässig Reagensröhrchen von etwa 12 bis 15 cm Länge und umstehender Form (siehe Fig. 17 a. f. S.) erwiesen. Das obere Ende des Röhrchens (*A*) ist ein wenig verjüngt und wird mittelst darauf aufgeschliffenen offenen Aufsatzes (*B*) geschlossen. Das enge Röhrchen (*c*) des Aufsatzes wird lose mit Glaswolle gefüllt und so der Zutritt fremder Organismen ver-

[1]) Journ. prakt. Chem. N. F. **20**, 443, 1879. — Dieser Band S. 477.

[2]) Zeitschr. f. klinische Medicin **8**, Heft 1 und 2.

hindert. Man hat hierbei, gegenüber den mit Watte verschlossenen Sterilisirröhrchen, einen doppelten Vortheil; denn erstens kann nicht allein die Nährflüssigkeit ausgekocht, sondern auch das trockene Röhrchen auf beliebig hohe Temperatur erhitzt werden. Sodann aber beim Ueberimpfen wird einfach der Deckel abgehoben, wobei nicht, wie bei den mit Watte verschlossenen Reagensröhrchen, einzelne Fasern des an die Glaswand angetrockneten oder angebrannten Wattepfropfens haften bleiben. Aus diesen Culturröhrchen wurden die reinen Anthraxbacillen in ebenso construirte, mit der sterilisirten Koch'schen Nährpeptongelatine gefüllte Kolben von 1.5 bis 2 Liter Inhalt übergeimpft. Bei der Temperatur von 37 bis 39° C. und Luftzutritt war die Vermehrung der geimpften Bacillen eine sehr intensive. Anfangs an der Oberfläche der Flüssigkeit, wurde sie hernach in allen Schichten trübe und nach drei Wochen hörte die Vermehrung völlig auf. Die Nährlösung wurde ganz klar und die Anthraxbacillen, oder eigentlich wie die nachherige mikroskopische Besichtigung gezeigt hat, nur die Sporen derselben, setzten sich in reichlicher Menge zu Boden, so dass ich aus drei Culturkolben mehrere Gramm der frischen Sporen erhielt.

Fig. 17.

Wie die oben mitgetheilten Analysen zeigen, besteht die Leibessubstanz der trockenen Fäulnissbacterien mehr als wie zu 84 Proc. aus Eiweisssubstanzen. Die wichtigste unter ihnen, mehr wie 90 Proc. der Gesammtmenge betragend, war die von uns mit dem Namen Mykoproteïn bezeichnete Substanz, die den Fäulnissbacterien durch 0.5 proc. Kalilösung entzogen werden kann.

Das Mykoproteïn ist in Wasser, Alkalien und verdünnten Säuren leicht löslich, wird aber aus seinen sauren Lösungen schon durch geringen Zusatz von Kochsalz gefällt — ein für Mykoproteïn besonders charakteristisches Verhalten. — Die Elementaranalysen dieses Eiweissstoffes ergaben 52.32 Proc. Kohlenstoff, 7.55 Proc. Wasserstoff, 14.75 Proc. Stickstoff und 25.38 Proc. Sauerstoff. Das Mykoproteïn enthält keinen Schwefel und keinen Phosphor.

Es war zu erwarten, dass die Milzbrandbacillen, die den Fäulnissbacillen morphologisch und auch bezüglich der Art der Vermehrung sehr ähnlich sind, in ihrer chemischen Zusammensetzung quantitativ wohl einige Verschiedenheiten zeigen werden, dass aber auch chemisch qualitative und leicht kenntliche Unterschiede zwischen den beiden Spaltpilzarten vorhanden seien, habe ich durchaus nicht vermuthet. Als ich aus den Milzbrandsporen das Mykoproteïn darstellen wollte, habe ich zu meiner Verwunderung gesehen, dass davon nur Spuren in den Anthraxsporen enthalten waren. Dagegen wird die Hauptmenge der Proteïnsubstanzen der Anthraxbacillen von einem eigenthümlichen Eiweissstoff gebildet, der in seinem chemischen Verhalten einerseits mit den Pflanzencaseïnen, andererseits mit den thierischen Schleimstoffen Aehnlichkeit hat. Der Eiweisskörper des Anthrax, in Alkalien leicht löslich, ist in Wasser, Essigsäure und verdünnten Mineralsäuren gänzlich unlöslich. Der durch Säure aus alkalischer Lösung in weissen Flocken abgeschiedene Körper, abfiltrirt und ausgewaschen, löst

sich in Essigsäure und verdünnter Salzsäure selbst in der Wärme nicht. Auch seine procentische Zusammensetzung ist, wenn aus der mit dem geringen Material ausgeführten Kohlen- und Wasserstoffbestimmung der Schluss berechtigt ist, von der des Mykoproteïns verschieden. Dagegen enthält dieser Eiweisskörper, den ich mit dem Namen Anthraxproteïn bezeichnen will, ebenso wie das Mykoproteïn keinen Schwefel. Als 0.4568 g der Substanz mit Salpetersäure oxydirt wurden, erhielt ich nach Zusatz von Baryumchlorid und 24 stündigem Stehen kein Baryumsulfat. Dieser Umstand ist insofern von Interesse, als daraus hervorgeht, dass für das lebendige, protoplasmatische Eiweiss der Gehalt an Schwefel nicht nothwendig ist. Ich bin gegenwärtig mit Bereitung von Milzbrandbacillen in grösseren Mengen beschäftigt, um sowohl ihre näheren Bestandtheile zu bestimmen, als wie auch diese ihnen eigenthümliche Eiweisssubstanz genauer zu untersuchen.

Dass dieser Eiweisskörper wirklich aus reinen Milzbrandbacillen abstammte, habe ich mich durch Ueberimpfen der erhaltenen Sporen auf sterilisirte Nährgelatine überzeugt. Die darauf gewachsenen Bacillen waren ganz homogen, ohne jede Beimengung anderer Organismen. Auch Mäuse und Meerschweinchen, mit den Sporen geimpft, gingen, wie die nachherige Section zeigte, an Milzbrand zu Grunde.

Unsere chemischen Untersuchungsmethoden der Spaltpilze sind sehr unvollkommen und mittelst ihrer können wir nur grobe Unterschiede erkennen, namentlich wie im vorliegenden Falle, wo grössere Mengen des reinen Materials schwer zu beschaffen sind. Ein solcher wesentlicher Unterschied wird durch die oben mitgetheilte Beobachtung, wonach das die Leibessubstanz der Milzbrandbacillen bildende Eiweiss von dem der Fäulnissbacillen verschieden ist, festgestellt. Ich zweifle nicht daran, dass, sobald das Material zugänglicher und die Untersuchungsmethoden mehr vervollkommnet sein werden, anscheinend morphologisch ganz gleiche Species chemisch und physiologisch sehr wesentliche Unterschiede zeigen werden. Wir werden dann wissen, warum die eine Species der Spaltpilze für den thierischen Organismus unschädlich ist, während eine andere, anscheinend ihr ganz ähnliche, eine Reihe von Krankheitserscheinungen hervorruft. Zweifellos müssen die letzteren wegen des chemischen Baues ihrer Leibessubstanz im Kampfe mit den thierischen Zellen Vorzüge besitzen. Aber auch für die Wahl des angegriffenen Gewebes, z. B. Haut, Lunge, Darm, worin sich der betreffende pathogene Spaltpilz localisirt, wird die chemische Beschaffenheit seiner Leibessubstanz maassgebend sein. Von diesen Gesichtspunkten aus verdient die schon früher in meinem Laboratorium von Dr. Szpilmann[1]) ausgeführte Untersuchung über das Verhalten der Milzbrandbacillen in Gasen viel mehr Berücksichtigung, als ihr zu Theil geworden ist. Dr. Szpilmann sah, dass Luft und noch besser reiner Sauerstoff Vermehrung der Milzbrandbacillen, ebenso wie der Fäulnissbacillen beschleunigt. Ozon dagegen tödtet die letzteren, während die Milzbrandbacillen darin leben und sich vermehren.

Diese Widerstandsfähigkeit gegen Ozon und aller Wahrscheinlichkeit nach auch gegen den in den Geweben freiwerdenden atomistischen Sauerstoff ist jedenfalls eine der maassgebenden Ursachen ihrer pathogenen Natur, wenn auch nicht

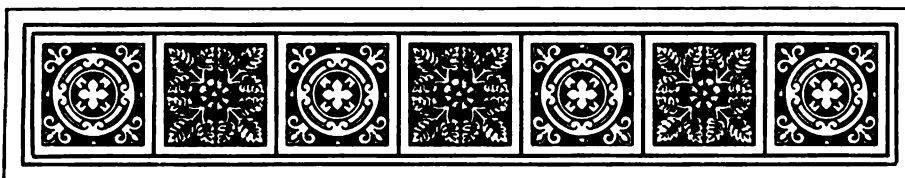
[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 4, 350. — Dieser Band S. 523.

ausschliesslich, denn z. B. Hunde sind gegen Milzbrand refractär. Besonders giftig wirkende Producte entstehen bei dem Lebensprocess der Milzbrandbacillen nicht. Die von den Milzbrandsporen abfiltrirte, klare, alkalisch reagirende Flüssigkeit enthält noch ziemlich viel gelöstes Anthraxproteïn, das durch Essigsäurezusatz daraus abgeschieden werden kann. Ich habe von dieser Flüssigkeit zwei Kaninchen je 5 ccm unter die Haut injicirt, ohne irgend welchen Schaden für die Thiere. Bekanntlich sind die Milzbrandbacillen aërobiotisch und gehen bei Sauerstoffausschluss zu Grunde. In den meisten Fällen ist die Menge der Bacillen im Blute und den Organen, namentlich aber der Lunge an Milzbrand verendeter Thiere eine so kolossale, dass wiederholt die Ansicht ausgesprochen wurde, ihre schädliche Wirkung auf den Organismus beruhe hauptsächlich in der Sauerstoffentziehung. Ich habe mittelst der von mir und N. Sieber in Pflüger's Archiv für Physiologie **31**, 319[1]) beschriebenen Methode, die physiologische Oxydation zu messen, bei Kaninchen im gesunden Zustande und nach der Infection mit Milzbrand die Menge des nach der Eingabe von 1 g Benzol ausgeschiedenen Phenols bestimmt; jedoch unter dem Einflusse von Milzbrand keine wesentliche Abnahme des gebildeten Phenols gefunden. Oefters findet man übrigens bei der Section von an Milzbrand gestorbenen Thieren die Anzahl der Bacillen im Blute und den Organen ganz minim.

Die vorhandenen Analysen der Spaltpilze sind sehr spärlich; aber schon aus den bis jetzt ermittelten Thatsachen geht hervor, dass weder im Thier- noch im Pflanzenreiche eine so riesige Verschiedenheit bezüglich der chemischen Zusammensetzung der Leibessubstanz morphologisch nahe verwandter Organismen vorhanden ist, wie gerade bei den Spaltpilzen. Wie verschieden ist z. B. die Zusammensetzung der Essigmutter, die aus einer zähen Gallerte mit eingebetteten kurzen Stäbchen besteht, von der der Fäulnissbacterien. Nach den Analysen von Loew[2]) enthält die Essigmutter 98.3 Proc. Wasser und 1.7 Proc. Trockensubstanz und in der letzteren 3.37 Proc. Asche und nur 1.82 Proc. Stickstoff, woraus v. Nägeli für die Essigmutterzellen etwa 12.6 Proc. aschefreie Cellulose (Pilzschleim) und 3.4 Proc. Asche berechnet.

Bern, im November 1884.

[1]) Dieser Band S. 683.

[2]) Vergl. C. v. Nägeli, Theorie der Gährung. München 1879.

# 1885

## Ueber das Hämin

von

**M. Nencki** und **N. Sieber.**

Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **20**, 325. Vorläufig in den Berichten **18**, 392 mitgetheilt.

Die durch Extraction der rothen Blutkörperchen mit salzsäurehaltigem Amylalkohol erhaltenen Häminkrystalle, deren Zusammensetzung wir entsprechend der Formel $(C_{32}H_{31}ClN_4FeO_3)_4C_5H_{12}O$ gefunden haben[1]), im Luftbade bis zu constantem Gewichte bei 130 bis 135° getrocknet, verlieren den Amylalkohol vollständig. Bei dieser Temperatur entweicht aber keine Salzsäure, wie überhaupt das Aussehen der Krystalle keine Veränderung erleidet, nur werden sie stark hygroskopisch. Sie sind dann entsprechend der Formel $C_{32}H_{31}ClN_4FeO_3$ zusammengesetzt. Durch Auflösen der bei 130 bis 135° getrockneten Präparate in verdünnter Natronlauge, Fällen des Filtrates mit verdünnter Salzsäure, Auswaschen des Niederschlages bis zur Entfernung des Chlors wird daraus reines Hämatin erhalten, dessen Analysen der früher von uns ermittelten Formel $C_{32}H_{32}N_4FeO_4$ entsprechen, wie dies aus folgenden Analysen hervorgeht:

0.291 g der nach dem früher beschriebenen Verfahren aus Rinderblut dargestellten Häminkrystalle, zunächst über $SO_4H_2$, sodann bei 130° bis zu constantem Gewichte getrocknet, gaben 0.671 g $CO_2$ und 0.1428 g $H_2O$ oder 62.88 Proc. C und 5.04 Proc. H.

0.268 g gaben 22 ccm N-Gas bei 14° und 715 mm Bst. oder 9.08 Proc. N.

0.3718 g des gleichen Präparates, in zugeschmolzenem Rohre mit Salpetersäure und salpetersaurem Silber 5 Stunden lang auf 200° erhitzt, gaben 0.0801 g AgCl und 0.0476 g $Fe_2O_3$ oder 5.33 Proc. Cl und 8.94 Proc. Fe.

Der Rest des Präparates wurde in verdünnter Natronlauge gelöst, filtrirt, aus dem Filtrate mit Salzsäure ausgefällt, ausgewaschen, bei 110° getrocknet und analysirt.

0.2395 g der Substanz, in offenem Rohr im Sauerstoffstrome verbrannt, gaben 0.5705 g $CO_2$ und 0.1196 g $H_2O$ oder 64.96 Proc. C und 5.54 Proc. H. Die im Schiffchen hinterbliebene Asche wurde in Salzsäure gelöst und aus der Lösung das

[1]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **18**, 401. — Dieser Band S. 745.

Eisen mittelst Ammoniak abgeschieden. Gefunden 0.0312 g $Fe_2O_3$ oder 9.12 Proc. Fe. 0.2489 g gaben 22 ccm N-Gas bei 16.5° und 705 mm Bst. = 9.53 Proc. N.

Die Häminformel $C_{32}H_{31}ClN_4FeO_3$, Aequivalent 610.37, verlangt 62.91 Proc. C, 5.08 Proc. H, 5.79 Proc. Cl, 9.17 Proc. Fe und 9.17 Proc. N. Die Hämatinformel $C_{32}H_{32}N_4FeO_4$, Aequivalent 592, verlangt C 64.86, H 5.40, N und Fe 9.46 Proc.

Ein anderes, ebenso wie das vorherige aus Rinderblut dargestelltes und bei 130° getrocknetes Häminpräparat ergab folgende Zahlen: 0.2882 g der Substanz mit chromsaurem Blei verbrannt gaben 0.6639 g $CO_2$ und 0.1395 g $H_2O$ oder 62.81 Proc. C und 5.37 Proc. H.

0.3522 g gaben 0.0783 g AgCl und 0.0447 g $Fe_2O_3$ oder 5.49 Proc. Cl und 8.88 Proc. Fe. Ein anderer Theil der analysirten Krystalle wurde in Hämatin verwandelt, das, bei 110° getrocknet und in offenem Rohr verbrannt, folgende Zahlen ergab: 0.2696 g gaben 0.6381 g $CO_2$, 0.1308 g $H_2O$ und 0.0353 g $Fe_2O_3$ oder 64.60 Proc. C, 5.39 Proc. H und 9.16 Proc. Fe.

Die Zahlen der Analysen bestätigen also unsere frühere Annahme, dass bei der Umwandlung der Häminkrystalle in das Hämatin durch Auflösen der ersteren in Alkalien Salzsäure abgespalten und dafür Wasser in das Molekül aufgenommen wird. Möglich, ja sogar wahrscheinlich ist es aber, dass das Chlor in den Häminkrystallen nicht an Wasserstoff, sondern an Kohlenstoff oder Eisen gebunden ist und dass die Umwandlung des Hämins in Hämatin in der Ersetzung des Chlors durch Hydroxyl besteht.

Obgleich durch diese Analysen die empirische Formel des Hämins und des Hämatins festgestellt ist, so suchten wir doch durch Darstellung neuer Derivate des Hämatins noch weitere Beweise für die Richtigkeit derselben. Das Nächstliegende war, das Hämin oder Hämatin zu acetyliren, wobei auch die Anzahl der in dem Hämatin enthaltenen Hydroxyle eruirt werden konnte. Die Versuche nach dieser Richtung hin fielen jedoch nicht günstig aus, indem beim Kochen des Hämins oder Hämatins mit Essigsäureanhydrid eine partielle Ammoniakabspaltung stattzufinden scheint. Die Häminkrystalle lösen sich in etwa 100 Theilen kochenden Eisessigs auf, bedeutend mehr in kochendem Essigsäureanhydrid, so dass in der Siedhitze etwa 7 Gewichtstheile des Anhydrids zur Auflösung von einem Gewichtstheile der Häminkrystalle genügen. Es wurden nun in einem Versuche 10 g Häminkrystalle mit dem 9 fachen Gewichte des Anhydrids eine Stunde lang am Rückflusskühler gekocht und heiss filtrirt. Aus dem Filtrate schieden sich beim Erkalten über $SO_4H_2$ concentrisch gruppirte Krystalle von grosser Unbeständigkeit aus. Man konnte nämlich unter dem Mikroskope verfolgen, wie die Krystalle durch Zusatz von absolutem Alkohol, Eisessig oder Wasser sich zersetzten und in amorphe, körnige Gebilde verwandelt wurden. Wir sind deshalb geneigt, dieselben als eine Doppelverbindung von Essigsäureanhydrid mit Hämin anzusehen. Die Krystalle wurden abfiltrirt, mit etwas Essigsäureanhydrid nachgewaschen, sodann zwischen Fliesspapier möglichst abgepresst und über $SO_4H_2$ getrocknet.

Das Gewicht der Substanz, die nach dem Trocknen amorph war, wurde erst nach mehrwöchentlichem Stehen über $SO_4H_2$ constant. Die Elementaranalysen dieses Productes ergaben folgende Zahlen: 0.2795 g der Substanz, im offenen Rohre

im Sauerstoffstrome mit chromsaurem Blei verbrannt, gaben 0.6449 g $CO_2$, 0.1301 g $H_2O$ und 0.0333 g $Fe_2O_3$ oder 62.92 Proc. C, 5.17 Proc. H und 8.35 Proc. Fe.

0.4109 g des gleichen Präparates, mit Salpetersäure und salpetersaurem Silber im zugeschmolzenen Rohre erhitzt, gaben 0.093 g AgCl und 0.0506 g $Fe_2O_3$ oder 5.59 Proc. Cl und 8.62 Proc. Fe.

0.2657 g des gleichen Präparates gaben 19 ccm N-Gas bei 718 mm Bst. und 17.0° = 7.8 Proc. N.

Am nächsten stehen die erhaltenen Zahlen der Formel eines monoacetylirten Hämins = $C_{32}H_{30}(C_2H_3O)ClN_4FeO_3$, Aequivalent 652.37, welche verlangt: C 62.54 Proc., H 5.21 Proc., Cl 5.43 Proc., N und Fe 8.58 Proc. Am wenigsten mit dieser Formel stimmt der gefundene Stickstoffgehalt überein, welcher, wie man sieht, merklich niedriger gefunden wurde. Noch weniger übereinstimmende Zahlen erzielten wir bei der Analyse eines Productes, das durch Kochen von Hämatin mit Essigsäureanhydrid erhalten wurde. Hämatin löst sich in Anhydrid weniger als das Hämin, weshalb wir 8 g des Hämatins mit dem 20fachen Gewichte Anhydrid am Rückflusskühler eine Stunde lang kochten. Aus der heiss filtrirten Lösung schied sich theilweise beim Erkalten, theilweise beim Verdunsten über $SO_4H_2$ ein amorphes, körniges Product aus, das abfiltrirt und ebenfalls nur über $SO_4H_2$ bis zu constantem Gewichte getrocknet wurde. Die Elementaranalyse dieses Productes zeigte, dass in demselben das Verhältniss von Eisen zu Stickstoff nicht mehr wie 1 : 4 war. Der Stickstoffgehalt ist erheblich niedriger geworden.

0.2837 g der Substanz gaben 0.6513 g $CO_2$, 0.1325 g $H_2O$ und 0.0354 g $Fe_2O_3$ oder 62.61 Proc. C, 5.18 Proc. H und 8.37 Proc. Fe. 0.4324 g der Substanz gaben 26 ccm N-Gas bei 13.5° und 720 mm Bst. oder 6.72 Proc. N.

So weit waren unsere Untersuchungen gediehen, als die Entdeckung einerseits des Parahämoglobins, andererseits der Farbstoffe der melanotischen Sarkome unseren Arbeiten eine andere Richtung gab. Wir werden das Studium des Hämins, sobald es unsere Zeit erlaubt, wieder aufnehmen. Wir sehen uns nur genöthigt, für jetzt einer abfälligen Kritik, welche unserer Untersuchung des Blutfarbstoffs von Seite Hoppe-Seyler's zu Theil geworden ist, an dieser Stelle entgegenzutreten. Die bezügliche Publication findet sich in den diesjährigen Berliner chemischen Berichten, XVIII. Bd., S. 601 und ist uns insofern willkommen, als die sachlichen Angaben Hoppe-Seyler's eine weitere Bestätigung der von uns aufgestellten Hämatinformel sind. Seine Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Stickstoffbestimmungen im Hämatin entsprechen nämlich der von uns aufgestellten Formel. Nur der Eisengehalt, den Hoppe-Seyler bloss aus der bei der Verbrennung zurückgebliebenen Schiffchenasche bestimmte, ist von ihm zu niedrig gefunden worden (8.82 Proc. statt 9.46 Proc.). Hoppe-Seyler theilt nun mit, dass jetzt auch er höhere Eisenprocente im Hämatin als die von ihm früher angegebenen findet, aber selbst bei Vermeidung der Veraschung noch nicht so hohe Zahlen, als wie sie unsere Formel verlangt. — Wir fanden im Mittel 9.3 Proc. Fe. — Da nun das Eisen ausschliesslich dem Hämatin zukommt und jede andere Beimengung den Eisengehalt herabdrückt, so ist zu erwarten, dass, sobald Hoppe-Seyler das Hämatin noch reiner darstellen lernt, auch er den Eisengehalt gleich wie wir finden wird.

Was wir vorausgesagt haben[1]), nämlich, dass gleich wie der aus Amylalkohol auskrystallisirte Häminamylalkohol, so auch das aus Eisessig auskrystallisirte Hämin Essigsäure enthalten wird, hat Hoppe-Seyler jetzt bestätigt. Da die Häminkrystalle verschiedener Blutarten und auf verschiedene Weise gereinigt stets die gleiche procentische Zusammensetzung hatten, entsprechend der Formel $(C_{32}H_{31}ClN_4FeO_3)_4$ $C_5H_{12}O$, so war die Annahme wohl gerechtfertigt, dass das Hämin im bestimmten Verhältnisse mit Amylalkohol krystallisire. Wenn, wie dies Hoppe-Seyler meint, die Krystalle Portionen der Mutterlauge, in der sie entstehen, in sich einschliessen, so sollte doch der Gehalt an Amylalkohol in ihnen und dann auch ihre procentische Zusammensetzung wechselnd sein. — Nach unserer Ansicht ist die Extraction des Hämins mit siedendem Amylalkohol das bequemste, billigste und vor Allem das reinste Präparat liefernde Verfahren. Hoppe-Seyler findet es lästig, und zwar wegen der schnellen Filtration der siedenden amylalkoholischen Lösung. — Jeder Andere muss aber gerade das schnelle Filtriren als einen wesentlichen Vortheil der Methode ansehen, da man dann nur kurze Zeit den unangenehmen Dämpfen von Amylalkohol ausgesetzt ist. Nun, wenn Hoppe-Seyler die Extraction mit Eisessig vorzieht, so möchten wir ihn bitten, dass er den Gehalt an Essigsäure in seinen Häminkrystallen auch dann bestimme, wenn sie nur über $SO_4H_2$ oder bei 100° getrocknet sind. — Vielleicht geschieht auch hier das Einschliessen der Mutterlauge stets in constantem Verhältniss.

Die Besorgniss Hoppe-Seyler's, dass, weil Amylalkohol, mit Salzsäure erwärmt, sich schwach roth färbt, die niederfallenden Krystalle deshalb von dieser Färbung etwas aufnehmen, theilen wir nicht. Die Spuren des entstehenden Farbstoffs sind im Amyl- sowie Aethylalkohol und Aether leicht löslich und bei dem langen Auswaschen der Krystalle mit diesen Flüssigkeiten ist die Besorgniss, es möchte etwas von dem Farbstoff den Häminkrystallen anhaften und die Zahlen der Elementaranalysen beeinflussen, einfach eine gesuchte Prüderie. Man kann übrigens auch mit weniger Salzsäure gute Ausbeute an Häminkrystallen erhalten. Wir nehmen bei unseren Darstellungen auf 400 g Blutpulver und 1600 ccm Amylalkohol nur 20 ccm Salzsäure von 1.12 spec. Gewicht.

Hinsichtlich der Bildung des Hämatoporphyrins scheint es, dass wir wirklich in den gleichen Irrthum wie früher Hoppe-Seyler verfallen sind. Zweifellos entsteht aus den Häminkrystallen beim Auflösen der letzteren in concentrirter Schwefelsäure unter Abspaltung des Eisens ein sauerstoffreicheres Product, wie dies aus den Elementaranalysen hervorgeht. Die Annahme aber, dass beim Auflösen des Hämins in concentrirter Schwefelsäure atmosphärischer Sauerstoff absorbirt werde, haben wir durch einen besonders angestellten Versuch nicht bestätigen können. Es wurden in ein Eudiometer über Quecksilber 0.4699 g reines, bei 130° getrocknetes Hämin in ein Gläschen gebracht, hierauf 9.48 ccm $O_2$ auf 0° und 760 mm Bst. reducirt hinzugelassen und nach dem Ablesen des Volums 50 ccm concentrirte Schwefelsäure zugesetzt. Beim Schütteln der Flüssigkeit über Quecksilber löste sich der grösste Theil des Hämins auf. Nach mehrstündigem Stehen wurde dann das Eudiometer

[1]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **18**, 411. — Dieser Band S. 753.

in viel Wasser übergebracht und nach Entfernung der Schwefelsäure das Gas noch mit Alkali geschüttelt. Das Volumen des Sauerstoffs im Eudiometer war jetzt = 9.5 ccm (auf 0° und 760 mm Bst. reducirt). Demnach keine Absorption. Beim Auflösen der Häminkrystalle in concentrirter Schwefelsäure wird nur Salzsäure, aber weder Kohlensäure, noch Wasserstoff frei.

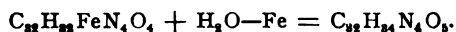
Wir haben die von uns für das Hämatoporphyrin aufgestellte Formel aus den Zahlen der Elementaranalysen berechnet. In zwei von verschiedener Darstellung herrührenden Präparaten haben wir gefunden:

C 69.57 und 69.44 Proc.
H 6.20 „ 6.13 „
N 9.67, 9.83 und 10.17 Proc.

Die von uns aufgestellte Formel $C_{32}H_{32}N_4O_5$ verlangt: C 69.55 Proc., H 5.80 Proc., N 10.14 Proc., O 14.51 Proc.

Noch besser stimmen die erhaltenen Zahlen zu der Formel $C_{32}H_{34}N_4O_5$, welche verlangt: C 69.31 Proc., H 6.13 Proc. und N 10.10 Proc.

Sie unterscheidet sich von der obigen nur durch ein Plus von $H_2$. Die Entstehung des Hämatoporphyrins aus Hämatin wäre danach sehr einfach:

$$C_{32}H_{32}FeN_4O_4 + H_2O - Fe = C_{32}H_{34}N_4O_5.$$

Nun war es uns unwahrscheinlich, dass gerade unter dem Einfluss von concentrirter Schwefelsäure, eines wasserentziehenden Agens, das Hämatin Eisen verlieren und Wasser in das Molekül aufnehmen sollte. Möglich, dass die Einwirkung der concentrirten Schwefelsäure auf das Hämin resp. Hämatin in der Abspaltung von Eisen und Ersatz desselben durch Wasserstoff besteht, nach der Gleichung: $C_{32}H_{32}N_4FeO_4 + SO_4H_2 = C_{32}H_{34}N_4O_4 + SO_4Fe$, und erst beim Auflösen des Productes in Alkalien, wie dies in unseren Versuchen der Fall war, eine Oxydation von $C_{32}H_{34}N_4O_4$ zu $C_{32}H_{34}N_4O_5$ stattfindet.

Die Angabe Hoppe-Seyler's, dass Hämatoporphyrin durch Einwirkung schwacher Säuren aus seinem hypothetischen Hämochromogen bei Abwesenheit von Sauerstoff gebildet werde, konnten wir nicht bestätigen, obgleich wir mehrfach den Versuch wiederholt haben. In einem besonders construirten Apparate hat Herr Dr. Lachowicz nach stundenlangem Durchleiten von Wasserstoff durch Hämoglobinlösungen, die danach völlig reducirt waren, sodann Vermischen derselben mit Säure unter Luftabschluss weder Hämatoporphyrin noch Eisenoxydulsalz erhalten. Durch reducirende Substanzen wird übrigens Hämatoporphyrin selbst verändert. Wir haben Hämatoporphyrin in 0.5 proc. Natronlauge gelöst, die Lösung auf dem Wasserbade erwärmt und mit kleinen Portionen 10 proc. Natriumamalgams reducirt. Nach zwei Tagen wurde die alkalische Flüssigkeit filtrirt, die Lösung mit Salzsäure ausgefällt und das abgeschiedene braunrothe Product bis zum Verschwinden der Chlorreaction im Filtrate gewaschen. Das noch feuchte Product löste sich leicht in absolutem Alkohol auf und zeigte im Spectrum drei Absorptionsstreifen, ähnlich denen des Hexahydrohämatoporphyrins.

Aus der alkoholischen Lösung konnte die Substanz durch Wasserzusatz vollkommen ausgefällt werden. Sie wurde hierauf abfiltrirt, zwischen Fliesspapier ab-

gepresst und sodann bei 110 bis 115° bis zu constantem Gewichte getrocknet. Das Product war aschefrei und ergab bei der Elementaranalyse folgende Zahlen: 0.2335 g der Substanz gaben 0.5792 g $CO_2$ und 0.1372 g H oder 67.65 Proc. C und 6.52 Proc. H. 0.2165 g gaben 17.7 ccm N-Gas bei 714 mm Bst. und 22°, entsprechend 8.68 Proc. N.

Das Product enthält also mehr Wasserstoff als das Hämatoporphyrin, dagegen weniger Kohlenstoff und namentlich weniger Stickstoff. Alkalische Reductionsmittel, zumal in der Wärme, eignen sich zur Untersuchung der Häminderivate weniger, da mit der Reduction gleichzeitig auch tiefere Zersetzung, wahrscheinlich unter Ammoniakspaltung, stattfindet. Wir haben deshalb zu der Bereitung des Hexahydrohämatoporphyrins Zinn und Salzsäure vorgezogen. Es ist interessant und eine weitere Bestätigung für die Richtigkeit der von uns für das Hexahydrohämatoporphyrin aufgestellten Formel, dass Hoppe-Seyler durch Einwirkung von Natronlauge und Zinkstaub auf das Hämatin den gleichen Körper und von der gleichen procentischen Zusammensetzung erhalten hat. Wenn er trotzdem auch diesen Körper nicht für eine reine Substanz hält, so können wir ihn daran nicht hindern. Es ist sonst in der Chemie üblich, Substanzen, die, auf ganz verschiedenen Wegen erhalten, gleiche Eigenschaften und gleiche Zusammensetzung haben, als das gleiche chemische Individuum zu betrachten. Auch durch Natriumamalgam wird das Hämatin in das Hexahydrohämatoporphyrin übergeführt, nur ist es schwieriger, dasselbe rein zu erhalten und namentlich von dem unveränderten Hämatin zu trennen. Bei dieser Gelegenheit möchten wir bemerken, dass das mittelst Zinn und Salzsäure erhaltene Hexahydrohämatoporphyrin, das in Alkalien unlöslich ist, längere Zeit mit verdünnter Natronlauge gekocht, darin löslich wird.

Ein Zeichen grosser Ueberschätzung ist die Behauptung Hoppe-Seyler's, dass er zuerst die Blutfarbstoffe, ihre Zusammensetzung und ihre Verwandlung beschrieben habe. Nicht er hat die Hämoglobin- oder Häminkrystalle entdeckt. Dass seine Angaben über die Zusammensetzung und Verwandlung des Hämins falsch sind, giebt er ja selbst zu, indem er den Eisengehalt des Hämatins jetzt höher findet und nachträglich entdeckt, dass seine Häminkrystalle Essigsäure enthalten.

Mag Hoppe-Seyler schliesslich leugnen, dass durch die Ermittelung der wahren Zusammensetzung des Hämatins die Erkenntniss der genetischen Beziehung zwischen dem Blutfarbstoff und Gallenfarbstoff gefunden sei. Wir wollen ihm auch dieses Vergnügen lassen. Andere und wir denken zwar anders darüber.

Bern, im August 1885.

# Ueber das Parahämoglobin.

von

**M. Nencki.**

Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **20**, 332. Vorläufige Mittheilung über diese Arbeit in den Berichten **18**, 393 und 2126.

Die in Nachfolgendem zu beschreibenden Versuche habe ich gemeinschaftlich zum Theil mit Dr. N. Sieber, zum Theil mit Dr. Br. Lachowicz ausgeführt. Sie bilden die Fortsetzung unserer Untersuchung über den Blutfarbstoff; denn nachdem durch dieselben die Zusammensetzung des farbigen Bestandtheiles der Hämoglobine ermittelt wurde, war die nächstliegende Frage die, wie der Farbstoff mit dem Eiweiss zu Hämoglobin verbunden sei. Seit der Entdeckung der Hämoglobinkrystalle sind darüber verschiedene Ansichten ausgesprochen worden, welche bis auf den heutigen Tag sich schroff gegenüberstehen. So hat noch vor Kurzem H. Struve[1]) die schon früher von Lehmann vertretene Ansicht zu der seinigen gemacht. Nach H. Struve sind die Hämoglobinkrystalle „Krystalle einer farblosen eiweissartigen Substanz, die bisher noch nicht im reinen Zustande dargestellt werden konnten, sondern immer von kleinen, aber überaus gleichen Quantitäten eines oder verschiedener Blutfarbstoffe mechanisch gefärbt sind". Aehnliches giebt auch Stanislaus v. Stein an. Durch Thierkohle entfärbtes, verdünntes Blut liefere farblose Krystalle, welche dieselben Formen wie die gefärbten zeigen. Hoppe-Seyler betrachtet das Hämoglobin als eine chemische Verbindung von Eiweiss mit Farbstoff, der aber nicht Hämatin sei, sondern von ihm Hämochromogen genannt wird. Bei Gegenwart von Sauerstoff verwandele sich das Hämochromogen sofort in Hämatin, bei Ausschluss von Sauerstoff werde es durch sehr verdünnte Säuren in Ferrosumsalz und Hämatoporphyrin gespalten, weshalb er dieses hypothetische Hämochromogen nicht hat isoliren können.

Es ist aber andererseits bekannt, dass dem Oxyhämoglobin ein Molekül Sauerstoff entzogen oder durch Kohlenoxyd oder Stickoxyd ersetzt werden kann und dass durch schwach oxydirende Agentien das Oxyhämoglobin in Methämoglobin, das nach den Beobachtungen Hüfner's ebenfalls krystallinisch ist, verwandelt wird. Jedenfalls sprechen die bekannten Thatsachen dafür, dass das Hämoglobin Veränderungen erleiden kann ohne die Sprengung des Hämoglobinmoleküls.

Um der Sache näher zu treten, mussten erst einige Vorfragen erledigt werden. Zunächst haben wir uns überzeugen wollen, dass die Hämoglobinkrystalle wirklich kein Chlor und keine Phosphorsäure enthalten. Nach Hüfner hat z. B. das Hundehämoglobin annähernd die Formel $C_{636}H_{1025}N_{164}FeS_3O_{189}$. Wenn diese Hämoglobinkrystalle nur eine additionelle Verbindung von Hämin mit Eiweiss wären, etwa nach

[1]) Mémoires de l'Académie des sciences de St. Petersbourg **32**, No. 7, 1884.

der Formel $C_{32}H_{31}ClN_4FeO_3 + C_{604}H_{994}N_{160}S_3O_{186}$, so würde ein solches Molekül nur 0.26 Proc. Cl enthalten und eine so geringe Menge Chlor hätte von den früheren Analytikern entweder übersehen, oder als von Verunreinigung mit Chloralkalien herrührend angesehen werden können. Wir haben zu dem Zwecke aus Pferdeblutkörperchen grössere Quantitäten Hämoglobin dargestellt und aus lauwarmem Wasser umkrystallisirt. Im nur einmal umkrystallisirten, zwischen Fliesspapier sorgfältig abgepressten, sodann über $SO_4H_2$ und hierauf bei 115° getrockneten Hämoglobin fanden wir nur 0.16 Proc. Cl. Zweimal umkrystallisirtes und dann mit 25 proc. Alkohol gut ausgewaschenes Hämoglobin war absolut chlorfrei, so dass 7.3414 g der Substanz, mit Salpetersäure und etwas salpetersaurem Silber zunächst in einem Erlenmeyer'schen Kolben gekocht, sodann in einer Schale zur Trockne verdunstet und wieder mit Wasser aufgenommen, nicht die geringste Trübung zeigte. Die reinen, zweimal umkrystallisirten und sorgfältig mit 25 proc. Alkohol ausgewaschenen Hämoglobinkrystalle des Pferdeblutes enthalten ferner keinen Phosphor. 6.4709 g des bei 115° getrockneten Hämoglobins, in einer Silberschale mit Kali und Salpeter oxydirt, gaben nach dem Auflösen der Schmelze in Salzsäure mit Molybdänsäurelösung nach 12 stündigem Stehen eine nicht wägbare Trübung. In zweimal umkrystallisirtem, jedoch nur wenig mit verdünntem Alkohol gewaschenem Präparate fanden wir nach gleicher Methode 0.26 Proc. $P_2O_5$. — Aus diesen Bestimmungen geht sicher hervor, dass die Hämoglobine keine additionellen Verbindungen von salzsaurem oder etwa phosphorsaurem Hämin mit Eiweissstoffen sind.

Bei den Prüfungen auf den Chlorgehalt sahen wir, dass trockenes Hämoglobin von concentrirter Salpetersäure sehr heftig angegriffen und unter Entwickelung rother Dämpfe rasch gelöst wird. Wird das Kochen der salpetersauren Lösung so lange fortgesetzt, bis keine rothen Dämpfe mehr entweichen, so krystallisirt in den meisten Fällen beim Erkalten noch immer eine organische, sehr beständige Säure aus, die wir Anfangs als specifisches Oxydationsproduct des mit dem Hämin verbundenen Eiweissstoffes angesehen haben. Wir haben deshalb das von unserer Häminbereitung rückständige, mit angesäuertem Amylalkohol extrahirte und fast farblose Eiweiss — das Globin — zunächst scharf getrocknet und sodann in Portionen von je 50 g mit Salpetersäure oxydirt. Wir haben so in grösseren Mengen diese Säure dargestellt und sie als Paranitrobenzoësäure erkannt. Gleichzeitig fanden wir aber, dass nicht allein das Globin, sondern auch andere Eiweissstoffe, wie z. B. das Caseïn und das Serumeiweiss, mit Salpetersäure oxydirt, ebenfalls Paranitrobenzoësäure liefern. Zu ihrer Darstellung aus den Proteïnsubstanzen hat sich folgendes Verfahren als das zweckmässigste erwiesen: Ein Gewichtstheil der gepulverten Eiweisssubstanz wird mit dem 5 fachen Gewichte rauchender Salpetersäure in einen geräumigen Kolben übergossen und die eintretende, sehr stürmische Reaction durch häufiges Umrühren gemässigt. Hat die Entwickelung rother Dämpfe nachgelassen, so wird die Flüssigkeit auf dem Wasserbade soweit eingedampft, bis die meiste Salpetersäure entfernt ist. Der hinterbleibende Rückstand besteht vorwiegend aus Oxalsäure neben der Paranitrobenzoësäure, welche durch kaltes Wasser von einander getrennt werden. Die Paranitrobenzoësäure, welche ungelöst zurückbleibt, wird durch mehrfaches Umkrystallisiren aus heissem Wasser unter Zusatz von Thierkohle in farblosen Blättchen

erhalten. Die Elementaranalyse der über Schwefelsäure getrockneten Säure ergab folgende Zahlen:

0.2845 g Substanz gaben 0.5220 g $CO_2$ und 0.0819 g $H_2O$ oder 50.03 Proc. C und 3.19 Proc. H.

0.2156 g Substanz gaben bei 13.5° und 706 mm Bst. 16.2 ccm N-Gas oder in Procenten: 8.19 Proc. N. Die Formel $C_6H_4(NO_2)CO_2H$ verlangt 50.29 Proc. C, 2.99 Proc. H und 8.39 Proc. N.

Im Reagensröhrchen trocken erhitzt, verpuffte die Säure. Der Schmelzpunkt des analysirten Präparates lag bei 236°. Nach Wiednmann[1]) schmilzt die Paranitrobenzoësäure bei 238°. Wir erhielten zwischen 0.6 bis 1.5 Proc. der rohen Säure von dem Gewichte des angewandten Eiweisses.

Es war unsere Absicht, die bisherige Vorstellung, dass die Häminkrystalle ein salzsaures Salz des Hämatins sind, durch Darstellung der Salze mit anderen Säuren auf ihre Richtigkeit zu prüfen. Da aus den rothen Blutkörperchen oder Hämoglobinkrystallen, sobald dieselben nur Spuren von Chloralkalien enthalten, durch Kochen, z. B. mit Oxalsäure, nicht etwa oxalsaures Hämatin, sondern chlorhaltige und oxalsäurefreie Häminkrystalle entstehen[2]), so musste zur Darstellung des schwefelsauren oder oxalsauren Salzes absolut chlorfreies Hämoglobin verwendet werden.

Wir haben daher zweimal umkrystallisirtes und lange mit verdünntem Alkohol ausgewaschenes Hämoglobin aus Pferdeblut, nachdem es durch Liegen auf Fliesspapier von dem grössten Theil der Mutterlauge befreit war, in der Absicht, es zu coaguliren, mit etwa dem fünffachen Volumen 93 proc. Alkohols versetzt. Da die Masse nicht gleich zu einem Coagulum erstarrte, so setzten wir etwas mehr Alkohol hinzu und liessen sie 16 Stunden lang bei einer Temperatur von etwa 8° ruhig stehen. Die Flüssigkeit verwandelte sich allerdings nach dieser Zeit in eine feste Masse, die aber zu unserer Ueberraschung nicht in Folge der Alkoholeinwirkung aus zersetztem, amorphem Hämoglobin, sondern aus ganz homogenen vierseitigen Säulen von der Farbe des Hämoglobins bestand. Wir waren überrascht, denn nach den Angaben in den üblichen Handbüchern soll Hämoglobin durch Alkohol zersetzt werden. So schreibt z. B. Hoppe-Seyler[3]): „Durch Alkohol werden die Oxyhämoglobinkrystalle zunächst unverändert gefällt, sehr bald aber beginnt im Niederschlage die Farbenänderung und Zersetzung zuerst schnell, dann langsamer fortschreitend, schliesslich den ganzen Farbstoff zerlegend.“ Dieser Ausspruch ist ein weiterer Beweis dafür, wenn es noch deren bedürfte, wie glaubwürdig die Angaben Hoppe-Seyler's sind. Die Krystalle wurden nun abfiltrirt und das absolut farblose Filtrat zeigte uns, dass nichts in Lösung gegangen war. Die Krystalle waren in der That nicht allein in Alkohol und Aether, sondern auch in Wasser absolut unlöslich und wir erkannten sehr bald, dass wir es hier mit einer isomeren oder polymeren Modification der Blutkrystalle zu thun hatten. Der Krystallbrei wurde Anfangs auf Fliesspapier getrocknet, dann mit viel destillirtem Wasser geschüttelt, wobei die ganz

[1]) Ann. Chem. Pharm. **193**, 226.

[2]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **18**, 141, u. Cazeneuve, Sur l'hématine. Thèse p. l. doctorat en médecine, p. 58, Paris 1876.

[3]) Physiologische Chemie S. 380.

unlöslichen Krystalle nach einigen Stunden ruhigen Stehens sich zu Boden setzten, so dass die darüberstehende Flüssigkeit ohne Verlust decantirt werden konnte. Der Bodensatz wurde auf ein Filter gebracht, mit Alkohol und sodann mit Aether sorgfältig ausgewaschen und über Schwefelsäure im Exsiccator getrocknet. Bei allen diesen Manipulationen veränderten die Krystalle ihre Form nicht im Mindesten, wovon man sich durch Vertheilen des Körpers in etwas Alkohol und mikroskopische Besichtigung des Präparates leicht überzeugen konnte. Sie lassen sich auch sehr gut pulvern und geben dann ein hell ziegelrothes Pulver von sammtartigem Aussehen, das über $SO_4H_2$ getrocknet im Luftbade bei 115 bis 120° noch 1.88 Proc. am Gewichte verliert. — Nach den Bestimmungen Hüfner's[1]) verliert das über Schwefelsäure getrocknete Pferdehämoglobin bei 115° 3.9 Proc. Wasser, demnach genau doppelt so viel als unser Präparat.

Die Elementaranalysen der zunächst über $SO_4H_2$, sodann bei 115 bis 120° getrockneten Substanz ergaben uns folgende Zahlen:

0.3086 g mit chromsaurem Blei im offenen Rohr verbrannt gaben 0.6214 g $CO_2$ und 0.1958 g $H_2O$ oder 54.91 Proc. C und 7.04 Proc. H.

0.3966 g gaben 0.7955 g $CO_2$ und 0.2488 g $H_2O$ oder 54.70 Proc. C und 6.97 Proc. H.

4.1396 g der Substanz wurden in einem Porcellantiegel verascht, die Asche in Salzsäure gelöst, das $Fe_2O_3$ mit Ammoniak ausgefällt, der Niederschlag abfiltrirt, ausgewaschen, bis zu constantem Gewichte geglüht und gewogen. Gefunden $Fe_2O_3$ 0.0276 g oder 0.467 Proc. Fe.

2.8535 g auf gleiche Weise behandelt gaben 0.0191 g $Fe_2O_3$ = 0.468 g Fe.

0.2492 g der Substanz gaben 39.0 ccm N-Gas bei 17° und 714 mm Bst. oder 17.04 Proc. N.

0.2412 g gaben 38.0 ccm N-Gas bei 16.5° und 707 mm Bst. oder 17.07 Proc. N.

0.939 g der Substanz mit Kali und Salpeter geschmolzen gaben 0.047 g $SO_4Ba$ oder 0.68 Proc. S.

Uebersichtshalber stelle ich die erhaltenen Zahlen mit den Analysen des Pferdehämoglobins von Kossel, Otto und Bücheler zusammen:

| | Oxyhämoglobin | | | Parahämoglobin |
|---|---|---|---|---|
| | Kossel<br>Proc. | Otto<br>Proc. | Bücheler<br>Proc. | Proc. |
| Kohlenstoff | 54.87 | 54.76 | 54.40 | 54.91 und 54.70 |
| Wasserstoff | 6.97 | 7.03 | 7.20 | 7.04 „ 6.97 |
| Stickstoff | 17.31 | 17.28 | 17.61 | 17.04 „ 17.08 |
| Schwefel | 0.65 | 0.67 | 0.65 | 0.68 |
| Eisen | 0.47 | 0.45 | 0.47 | 0.468 „ 0.467 |
| Sauerstoff | 19.73 | 19.81 | 19.67 | 19.86 |
| | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 8, 360.

Wie aus der Zusammenstellung ersichtlich, hat der Körper die gleiche procentische Zusammensetzung wie das Hämoglobin, weshalb wir ihn mit dem Namen Parahämoglobin bezeichnen. Es ist zu erwarten, dass die Parahämoglobine anderer Blutarten die gleiche procentische Zusammensetzung wie die zugehörigen Hämoglobine haben werden.

Von verdünnten fixen Alkalien wird das Parahämoglobin beim Umschütteln gelöst. Die braunrothe alkalische Lösung zeigt im Spectrum den Absorptionsstreifen des Hämatins. Säuren erzeugen in der alkalischen Lösung einen braunen amorphen Niederschlag. Noch langsamer als durch Alkalien wird das Parahämoglobin durch wässerige Mineralsäuren zersetzt. Mit angesäuertem Alkohol können die Krystalle sogar längere Zeit gekocht werden, ohne sich zu verändern. Sie eignen sich deshalb nicht zur Häminbereitung. Als wir in der Absicht, daraus schwefelsaures Hämin darzustellen, die Krystalle mit Amylalkohol zum Sieden erhitzten und nach dem Ansäuern mit etwas Schwefelsäure noch 10 Minuten lang kochten, blieb fast alles Parahämoglobin unverändert und aus der schwach gefärbten, heiss filtrirten Lösung schieden sich nur wenige amorphe Flocken und Körner aus. Das gleiche Resultat erhielten wir, als wir aus den Krystallen das Hämin mit Amylalkohol und wenig Salzsäure extrahiren wollten. Es ging zwar mehr Hämin in Lösung über, das sich aber ebenfalls beim Erkalten der Lösung amorph abgeschieden hat.

Die Parahämoglobinkrystalle sind doppelbrechend. Bringt man trockenes, oder mit absolutem Alkohol befeuchtetes Parahämoglobin auf ein Objectglas, so leuchten die Krystalle im Polarisationsmikroskop bei gekreuzten Nicols im Dunkeln. Das Leuchten ist aber schwächer als bei den Oxyhämoglobinkrystallen. Sie lassen rothe Lichtstrahlen durch. Suspendirt man die in Wasser gänzlich unlöslichen Krystalle und schüttelt kräftig in einem Reagensröhrchen, so dass sie gleichmässig in der Flüssigkeit vertheilt sind, so sieht man im Spectralapparate bei guter Beleuchtung deutlich die beiden Streifen des Oxyhämoglobins. Weit besser kann man die beiden Streifen an grossen, gut ausgebildeten Parahämoglobinkrystallen im Mikrospectralapparate erkennen. Wir haben sie mit einem Zeiss'schen Mikrospectroskop an einzelnen Parahämoglobinkrystallen gesehen, welche über 3 Monate alt waren. Die beiden Streifen sind nur, auch bei frisch dargestelltem Parahämoglobin, nicht so scharf wie bei Oxyhämoglobin, mehr verwaschen.

Von besonderem Interesse ist das Verhalten der Parahämoglobinkrystalle gegen ammoniakhaltigen Alkohol. Sie lassen sich bei Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit aus solchen Lösungen umkrystallisiren. Wird Parahämoglobin mit absolutem Alkohol, der bei $0^{0}$ mit trockenem Ammoniak gesättigt ist, geschüttelt, und zwar in einer verkorkten Flasche oder Reagensrohr, so dass Luft nicht hinzutreten kann, so geht ein geringer Theil mit schön rother Farbe in Lösung, welche in dünner Schicht im Spectrum nur einen Streifen ziemlich genau in der Mitte zwischen *D* und *E* zeigt. Diese Lösung bleibt tagelang unverändert. Filtrirt man nun dieselbe in ein grosses flaches Uhrglas, so dass Alkohol und Ammoniak sich rasch verflüchtigen können, so setzt sich am Boden des Uhrglases ein Theil des Parahämoglobins als schwerer krystallinischer Niederschlag ab, während der Rest durch Berührung mit Luft bald zu Eiweiss und Hämatin oxydirt wird. Man giesst deshalb, noch bevor

sich das letztere flockig auszuscheiden beginnt, die Flüssigkeit von dem feinkörnigen Niederschlage ab, welcher dann unter dem Mikroskope als kurze, vierseitige Prismen, ganz von dem Aussehen und der Farbe des ursprünglichen Parahämoglobins, erscheint. Die Krystalle sind nur durchsichtiger als die ursprünglichen; sie sind doppelbrechend. Nach kurzer Zeit zerfallen auch diese an der Luft in Eiweiss und Hämatin. Obgleich nun das Umkrystallisiren des Parahämoglobins auf diese Weise jedesmal gelingt, so ist es begreiflich, dass wir bei der Zersetzbarkeit der Krystalle in der alkalischen Mutterlauge nur so viel davon isoliren konnten, um die Eigenschaften der Krystalle, resp. ihre Eiweissnatur zu constatiren. Nach wochenlangem Stehen in verkorkten Flaschen nimmt die ammoniakalische Lösung des Parahämoglobins einen Stich ins Bläuliche an und an Stelle des einen Streifens sieht man im Spectrum zwei scharf begrenzte, ähnlich den Lösungen des Oxy- oder Kohlenoxydhämoglobins; nur ist die Lage der beiden Streifen mehr nach dem Violett zu verschoben. Sobald die Parahämoglobinlösung statt des einen diese zwei Absorptionsstreifen zeigt, werden beim Verdunsten derselben keine Krystalle mehr erhalten. Auch dieser Versuch wurde öfters und immer mit gleichem Resultate wiederholt. Es ist sehr wahrscheinlich, dass hier die gleiche Erscheinung vorliegt, wie sie schon früher bei ganz anderer Versuchsanordnung Hoppe-Seyler[1]) beobachtete. Er beschreibt sie folgendermaassen: „Verdünnte Natronlauge mit Blutfarbstofflösung nach Entfernung des Sauerstoffs durch anhaltenden Wasserstoffstrom im zugeschmolzenen Kugelapparate gemischt, giebt eine prächtig gefärbte Flüssigkeit, welche noch bei sehr grosser Verdünnung nur einen Streifen ziemlich genau in der Mitte zwischen den Liniengruppen $D$ und $E$ im Spectrum hervorruft. Die Mischung blieb ziemlich unverändert; als sie einige Zeit auf 90° im Wasserbade erhitzt war, wurde sie nur etwas trübe und weniger schön gefärbt, nach einiger Zeit zeigten sich bei der Spectraluntersuchung zwei Streifen, nämlich die beiden des Stockvis'schen reducirten Hämatins, von denen der erste, bekanntlich sehr scharfe dunkle Streif mit dem obigen, in der Mitte zwischen $D$ und $E$ beobachteten, identisch ist."

Bei dem Zerfall des Parahämoglobins in Eiweiss und Hämatin ist nicht allein Luft, sondern auch Wasser betheiligt, wovon wir uns durch folgende Versuche überzeugten: In einem mit Quecksilber gefüllten Eudiometer wurden 9.5 ccm (auf 0° und 760 mm Bst. reducirt) trockenen Sauerstoffgases eingeführt, sodann ca. 0.5 g Parahämoglobinkrystalle in den Sauerstoffraum hineingeschoben und schliesslich mittelst einer gebogenen Pipette 25 ccm ammoniakhaltiger, absoluter Alkohol zugelassen. Nach einiger Zeit löste sich ein Theil der Krystalle mit schön rother Farbe in Alkohol auf, welcher, spectroskopisch untersucht, nur den einen Streifen zwischen $D$ und $E$ zeigte. Selbst nach zweitägigem Stehen und Umschütteln blieb die Farbe der Flüssigkeit unverändert und zeigte keine Spur eines Absorptionsstreifens im Roth. Nach Verlauf dieser Zeit wurde das Eudiometer sammt seinem Inhalt in Wasser gebracht und jetzt konnte man sehen, wie bei Berührung mit dem letzteren die Farbe der Lösung sich änderte. Sie wurde braunroth und bei der spectroskopischen Untersuchung zeigte sich, dass der Streifen zwischen $D$ und $E$ verschwunden war und

[1]) Med.-chem. Untersuchungen. Berlin 1866 bis 1871. Seite 543.

statt dessen der Hämatinstreifen im Roth sichtbar wurde. Ob eine Sauerstoffabsorption stattgefunden hat, konnte in diesem Versuche wegen der Spannung des Ammoniaks nicht entschieden werden. Dass beim Auflösen des Parahämoglobins in wässerigen Alkalien Sauerstoff absorbirt werde, davon haben wir uns wiederholt überzeugt. Ein quantitativer Versuch ergab uns folgende Zahlen:

0.3612 g über $SO_4H_2$ getrockneten Parahämoglobins wurden in ein mit Quecksilber und Sauerstoff gefülltes Eudiometer in einem Gläschen hineingebracht. Das Volum des Sauerstoffs auf 0° und 760 mm Bst. reducirt war = 36.29 ccm. Hierauf wurden noch 55 ccm 5 proc. Kalilauge hinzugelassen, das Ganze jetzt über Quecksilber stehen gelassen und häufig umgeschüttelt. Nach vier Tagen, als das Parahämoglobin vollkommen gelöst war, wurde das Eudiometer sammt Inhalt ins Wasser gebracht und das rückständige $O_2$-Volumen abgelesen. Auf 0° und 760 mm Bst. reducirt war dasselbe = 20.83 ccm. Danach wurden 15.36 ccm oder 0.021964 g Sauerstoff absorbirt. 100 g Parahämoglobin würden also bei der Spaltung in Hämatin und Eiweiss 6.08 g Sauerstoff absorbiren. Es ist dies der einzige von uns ausgeführte quantitative Versuch und ich behalte mir die Wiederholung desselben vor. Ich beabsichtige auch zu bestimmen, wie viel Sauerstoff alkalische Oxyhämoglobinlösungen absorbiren, wobei ich Aufschlüsse über die Natur des Methämoglobins zu erlangen hoffe.

Lässt man Parahämoglobinkrystalle einige Zeit im Wasser liegen, so quellen sie darin auf und verlieren ihr Doppelbrechungsvermögen. Im Polarisationsmikroskope bei gekreuzten Nicols bleiben die Krystalle ganz dunkel. Nimmt man aber das Deckgläschen von dem Präparate weg und lässt das Wasser verdunsten, so tritt die Erscheinung der Doppelbrechung deutlich hervor. Dieses Spiel kann am gleichen Präparate öfters wiederholt werden. Das Aufquellen ist die einzige Veränderung, welche Wasser an den Parahämoglobinkrystallen hervorruft. Sie können jedoch wochenlang darin liegen, ohne die Krystallform zu verlieren.

Die Ueberführung des Oxyhämoglobins in die unlösliche Modification legte uns die Frage nahe, wie sich das Kohlenoxydhämoglobin und das Methämoglobin gegen Alkohol verhalten würden. Wir haben zu dem Zwecke zunächst Kohlenoxydhämoglobin aus Pferdeblut dargestellt. Die zweimal aus lauwarmem Wasser umkrystallisirten Krystalle, durch Liegen auf Fliesspapier von der Mutterlauge befreit, wurden einerseits mit absolutem Alkohol, andererseits mit Aether übergossen und längere Zeit stehen gelassen. Es gelang uns aber nicht, daraus die entsprechende Paraverbindung zu erhalten. In Alkohol und Aether halten sich die Krystalle monatelang unverändert und behalten ihr Doppelbrechungsvermögen. Lässt man sie aber trocken an der Luft liegen, so schrumpfen sie zusammen und werden zu einer braunen amorphen Masse. Suspendirt man sie in Wasser, so quellen sie auf und sind in wenigen Minuten in eine amorphe Masse verwandelt. Aehnlich verhält sich das Methämoglobin, nur ist hier der Uebergang in den amorphen Zustand ein fast augenblicklicher. Nach Hüfner's Vorschrift aus Schweineblut dargestellte Methämoglobinkrystalle lassen sich in Alkohol oder Aether unverändert aufbewahren, in Berührung mit Wasser gehen sie sofort in den amorphen Zustand über.

Ich beabsichtige jedoch auch hierüber mit Beginn des Winters neue Versuche

anzustellen. In der warmen Jahreszeit sind derartige Untersuchungen, trotz aller Eisschränke, zu umständlich und kostspielig.

H. Struve[1]), welcher schon früher constatirte, dass die Oxyhämoglobinkrystalle durch Alkohol ohne Veränderung ihrer Form in Wasser unlöslich werden, giebt an, dass man den Parahämoglobinkrystallen durch ammoniakalischen Spiritus, Eisessig oder concentrirte Schwefelsäure den Farbstoff entziehen kann, ohne dass sie ihre Krystallform verlieren. Ebenso werden die durch Alkohol in den unlöslichen Zustand übergeführten Blutkrystalle durch Schütteln mit Chlorwasser rasch und vollständig entfärbt, wobei durchaus keine Veränderung der Krystalle zu bemerken sei. H. Struve betrachtet deshalb die Hämoglobinkrystalle als Krystalle einer farblosen eiweissartigen Substanz, die nur mechanisch durch den Blutfarbstoff gefärbt sind.

Aus den oben mitgetheilten Versuchen geht hervor, dass bei der Abspaltung des Farbstoffes aus den Blutkrystallen Sauerstoff und Wasser in Reaction treten. Diese Thatsache spricht nicht zu Gunsten der Auffassung Struve's. Aus unseren Versuchen ist nicht zu ersehen, welcher von den beiden Bestandtheilen des Parahämoglobins — der Farbstoff oder das Eiweiss — den Sauerstoff absorbirt. Es ist zwar wahrscheinlicher, dass der Farbstoff oxydirt werde, dabei bleibt aber nicht ausgeschlossen, dass auch der eiweissartige Bestandtheil Sauerstoff aufnehme. Die bemerkenswerthen Beobachtungen Struve's bedürfen weiterer Untersuchungen. Vielleicht dass seine durch Chlorwasser farblos gewordenen Hämoglobinkrystalle aus wasserfreiem, ammoniakalischem Alkohol sich werden umkrystallisiren lassen.

Die Angabe, dass durch Thierkohle entfärbtes, verdünntes Blut farblose Hämoglobinkrystalle liefere, konnten wir nicht bestätigen. Reine Oxyhämoglobinkrystalle, in lauwarmem Wasser gelöst, wurden mit Thierkohle geschüttelt und filtrirt. Die schwach braunroth gefärbte Flüssigkeit zeigte im Spectrum den Methämoglobinstreifen. Sie wurde mit einem Viertel ihres Volumens Alkohol versetzt und im Eisschrank stehen gelassen. Nach 24 Stunden haben sich am Boden des Gefässes wenige Krystalle abgesetzt, die sich bei genauer Untersuchung als Methämoglobin erwiesen. Der Grund der Umwandlung des Oxyhämoglobins in Methämoglobin kann wohl darin liegen, dass die Thierkohle Spuren von einem Ferrocyansalz enthielt, welche sich auch durch Auskochen mit Salzsäure schwer entfernen lassen. Es ist aber auch nicht ausgeschlossen, dass die Porosität der Thierkohle diese Veränderung verursache. Die angewendete Thierkohle reagirte völlig neutral. Als wir Oxyhämoglobinlösung durch eine dicke Schicht von Thierkohle filtrirten, war das Filtrat zwar farblos, es enthielt aber nur Spuren eines Eiweissstoffes, der erst durch Essigsäure und Ferrocyankalium nachzuweisen war. Es steht dies in Uebereinstimmung mit den Versuchen von Krysinski[2]), wonach Hämoglobin- oder Eiweisslösungen, mit Knochenkohle geschüttelt, ein ganz wasserhelles Filtrat geben, in welchem keine Spur von Eiweiss oder Pepton nachzuweisen ist.

Das Parahämoglobin ist kein neu entdeckter Körper. Frühere Experimentatoren

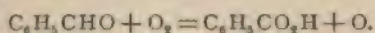
[1]) Mémoires de l'académie impériale des sciences de St. Pétersbourg, VII. série, 1884. T. XXXII.

[2]) Ueber Suspension und Lösung. Sitzungsberichte der Jenaischen Gesellschaft für Medicin und Naturwissenschaft. 1884.

haben es schon in den Händen gehabt. Ja sogar die zuerst von Reichert gesehenen Blutkrystalle sind Parahämoglobin gewesen. Nachdem aber F. Kunde und O. Funke das in Wasser lösliche Oxyhämoglobin gefunden haben, ist dieser Körper in Vergessenheit gerathen, wozu die irrige Behauptung, dass Alkohol Hämoglobin zersetze, nicht wenig beigetragen hat. Die vorstehende Mittheilung zeigt, dass es lohnend war, die Veränderung der Oxyhämoglobinkrystalle durch Alkohol genauer zu untersuchen, denn die erzielten Resultate bringen uns der Erkenntniss des molekularen Baues des Eiweissmoleküls einen Schritt näher.

Der Uebergang der in Wasser löslichen Hämoglobinkrystalle in das Parahämoglobin ist durchaus analog der Umwandlung der löslichen Eiweissstoffe in ihre unlöslichen Modificationen durch die Hitze oder Alkoholzusatz zu ihren wässerigen Lösungen. Andererseits haben wir in der Chemie eine ganze Reihe analoger Erscheinungen an Substanzen von bekannter molekularer Structur und es lässt sich dieser Vorgang, wie bei den Aldehyden oder den Cyanverbindungen, nur als Folge einer Atomverschiebung im Molekül auffassen. Ich habe schon in der ersten hierauf bezüglichen Mittheilung in den Berliner chemischen Berichten betont, dass die Forschung in der Chemie der Eiweisskörper, wenn wir den gemeiniglich mit dem Worte „Leben" bezeichneten Erscheinungen näher treten wollen, eine neue Richtung einschlagen muss. Wie Pflüger[1]) vor mehr als 10 Jahren mit Recht hervorgehoben, muss das Eiweiss der lebendigen Zellen eine ganz andere molekulare Structur haben, als wie das in den todten Geweben, und die Beweise dafür, dass das Eiweiss in den lebendigen Zellen eine labile aldehydische Structur habe, mehren sich mit jedem Tage.

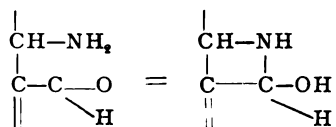
Stark reducirende Körper, wie die Oxydulsalze, Aldehyde, Leukoverbindungen der Farbstoffe u. dergl. mehr, wirken gleichzeitig oxydirend, indem sie in Folge ihrer grossen Avidität zum Sauerstoff den molekularen atmosphärischen Sauerstoff in Atome spalten, wie z. B.

$$C_6H_5CHO + O_2 = C_6H_5CO_2H + O.$$

Nach meinen Beobachtungen[2]) oxydiren Lösungen der Eisen- oder Kupferoxydulsalze, mit Luft und Benzol geschüttelt, das letztere zu Phenol. Nach Radenowitsch[3]) entsteht bei der Oxydation von Benzaldehyd an der Luft Wasserstoffsuperoxyd. Ich habe einige der leichter zugänglichen Aldehyde auf ihr Verhalten gegen Guajakharz, das bekannte Reagens auf atomistischen Sauerstoff, untersucht. Wirkungslos waren Aethyl-, Valer-, Salicyl-, Paraoxybenzaldehyd und Furfurol. Schwache Blaufärbung gab Zimmtaldehyd; dagegen Benzaldehyd, also derjenige Aldehyd, der am raschesten an der Luft sich oxydirt, mit Guajaktinctur versetzt, giebt sofort eine tiefblaue Färbung. Aus der älteren Literatur ist bekannt, dass viele pflanzliche und thierische Gewebe im frischen Zustande Guajakharz bläuen, so z. B. der Saft frisch ausgepresster Leber, der Mesenterialdrüsen, der Eiter und die Milch. In der Technik ist diese Reaction auf frische Milch sehr gebräuchlich. Ueber

[1]) Dessen Archiv **10**, 251.
[2]) Journ. f. prakt. Chemie **26**, 25, 1882. — Dieser Band S. 659.
[3]) Berichte **6**, 1208.

80° erwärmte Milch wird durch Guajaktinctur nicht mehr blau gefärbt. Das Auftreten des atomistischen Sauerstoffs ist hier die Folge des reducirenden protoplasmatischen Eiweisses. So hat schon Heidenhain[1]) an Kaninchen gesehen, denen er indigschwefelsaures Natron injicirte, dass das Epithel der gewundenen Harncanälchen die Indigschwefelsäure reducirt. Die stark reducirende Wirkung des protoplasmatischen Eiweisses wurde in der letzten Zeit durch die Versuche von Ehrlich[2]) mit Indophenol und dem löslichen Alizarinblau bestätigt und unsere Kenntnisse hierüber durch eine Reihe von Beobachtungen erweitert. Bekannt ist die begünstigende Gegenwart der Alkalien für die Bildung des atomistischen Sauerstoffs aus den Untersuchungen Radziszewski's[3]) über die thierische Phosphorescenz. Vor Allem gebührt aber Loew und Bokorny das Verdienst, nachgewiesen zu haben, dass diese reducirende Wirkung keinem anderen von den vielen Bestandtheilen der Zellen, als wie nur dem protoplasmatischen Eiweiss zukommt. In der That giebt es wohl unter den hiermit sich beschäftigenden Physiologen keinen, der nicht die Ansicht theilte, dass die physiologische Oxydation durch dieses reducirende protoplasmatische Eiweiss bewirkt werde. Vielleicht Hoppe-Seyler, falls er noch ernstlich an seiner Wasserstofftheorie festhält, und seinen getreuen Baumann ausgenommen.

Die Umwandlung des in Wasser leicht löslichen Oxyhämoglobins in das Parahämoglobin ist ein weiterer Beweis für die Aehnlichkeit im molekularen Bau des protoplasmatischen Eiweisses und der Aldehyde, welche letzteren mittelst der Aldehydgruppe — CHO — sich so leicht polymerisiren und mit anderen Molekülen zu complexeren Verbindungen condensiren. Ich bin der Ansicht wie Loew, dass die verschiedenen protoplasmatischen Eiweissstoffe eine ganze Anzahl solcher Aldehydgruppen enthalten und nach meinem Dafürhalten ist dies der Grund, dass das Molekulargewicht der Eiweisskörper ein sehr grosses ist. Die Leichtigkeit in der Atomverschiebung wird dadurch noch besonders erhöht, wenn an dem der Aldehydgruppe benachbarten Glied der Kohlenstoffkette ein Amid — $NH_2$ — sich befindet. Die Stabilität muss dann soweit abnehmen, dass schon ein geringer Anstoss die Atomverschiebung bewirkt, z. B. im Sinne folgender von Loew gegebenen Gleichung:

$$\begin{array}{lcl} | & & | \\ CH-NH_2 & & CH-NH \\ | & & |\quad\;\; | \\ C-C=O & = & C-C-OH \\ \|\quad\;\; \searrow H & & \|\quad\;\; \searrow H \end{array}$$

Es ist gewiss interessant, dass der Hämoglobinkrystall bei seiner Umwandlung in die unlösliche Modification sogar seine optischen Eigenschaften beibehalten hat, indem er im Spectrum noch die beiden Streifen des Oxyhämoglobins zeigte. Es bedarf vielleicht einer intramolekularen Atomverschiebung nur an einem einzigen Orte im Molekül, etwa im Sinne der obigen Gleichung, damit das Oxyhämoglobin

---

[1]) Max Schultze's Archiv für mikroskopische Anatomie **10**, 38, 1874.

[2]) Das Sauerstoffbedürfniss des Organismus von Prof. Ehrlich. Berlin 1885.

[3]) Ann. Chem. Pharm. **203**, 305.

zu Parahämoglobin werde. Ausdrücke, wie die, dass durch Alkohol die Hämoglobinkrystalle „gehärtet“ oder die Gewebe beim Absterben „starr“ werden, sind medicinische Bezeichnungen für molekulare Atomverschiebungen, wie wir sie z. B. bei der Cyansäure, wenn sie zu Cyanursäure, oder dem Styrol, wenn es zu Meta- oder Distyrol wird, kennen.

Aber nicht allein die Verbrennung in den Organismen geschieht mittelst der labilen Eiweissmoleküle. Ich halte dafür, dass die Wirkung der Enzyme auf die in ihrem Molekül enthaltenen labilen Gruppen zurückzuführen ist. Dass die Enzyme zu den Proteïnsubstanzen gehören, unterliegt keinem Zweifel. Für das Trypsin hat vor Kurzem Loew[1]) gezeigt, dass es die gleiche procentische Zusammensetzung wie die echten Eiweisskörper habe. Eine ausserordentliche Unbeständigkeit gehört mit zu den charakteristischen Eigenschaften der Enzyme. Säuren, Alkalien, Metallsalze, mehr oder weniger concentrirt, machen sie unwirksam; ebenso längere oder häufige Behandlung mit Alkohol. Selbst durch längeres Aufbewahren im trockenen Zustande bei gewöhnlicher Temperatur werden ursprünglich sehr wirksame Enzyme öfters zu unserer unangenehmen Ueberraschung unlöslich und unwirksam. Ebenso vertragen die Enzyme, namentlich feucht, keine höheren Temperaturen, obgleich für die verschiedenen thierischen und pflanzlichen Enzyme die oberste Temperaturgrenze innerhalb ziemlich weiter Grenzen schwankt. Die hydrolytische Wirkung der Enzyme kann bekanntlich durch verdünnte Mineralsäuren nachgemacht werden. Es ist höchst wahrscheinlich, dass ähnlich wie bei der Umwandlung der Stärke durch verdünnte Schwefelsäure zu Dextrin, Maltose und Dextrose sich intermediär verschiedene Aetherschwefelsäuren bilden, welche dann durch Wasser in das betreffende Kohlehydrat und Schwefelsäure zerlegt werden; so auch die Diastase oder das Ptyalin mit der Stärke Aetherarten bildet, welche dann durch Wasser wieder in das betreffende Enzym und ein einfacher zusammengesetztes Kohlehydrat zerfallen. Aehnliche, leicht zerlegbare Verbindungen giebt z. B. schon der gewöhnliche Aethylaldehyd mit den Amiden, mit den Urethanen u. dergl. mehr und es sind jedenfalls solche labile aldehydartige Gruppen im Molekül der Enzyme, die sie zur Bildung dieser leicht zersetzbaren Aetherarten mit Eiweiss oder Kohlehydraten befähigen. In den Enzymen ist bereits eins von den Grundphänomenen des Lebens, nämlich die Irritabilität, enthalten, denn gegen die chemischen, thermischen und elektrischen Reize ist das Verhalten der Enzyme und des lebendigen Protoplasmas in vielen Fällen das gleiche. Es ist nur natürlich, dass noch die Biologen der dreissiger Jahre, durch solche Aehnlichkeiten verleitet, die Enzyme und die einzelligen, fermentative Processe bewirkenden Organismen für gleichwertig gehalten haben. Auf welche Weise aus dem inerten das labile Eiweiss entsteht, darüber können wir jetzt nur Vermuthungen aussprechen. Die Annahme ist naheliegend, dass dies durch eine Art fermentativer Wirkung geschieht. Enzyme wirken wie die verdünnten Säuren und durch verdünnte Säuren werden aldehydische Derivate unter Regeneration der Aldehydgruppen gespalten, wie z. B. Aethylidenharnstoffe oder Aethylidenurethane in Aldehyd und Harnstoff resp. Urethan. Auch ist die Möglichkeit, ja Wahrscheinlichkeit nicht ausgeschlossen,

---

[1]) Pflüger's Archiv **27**, 203.

dass in dem protoplasmatischen Eiweiss, ausser den uns bekannten labilen Gruppen, noch andere labile Lagerungen der Atome im Molekül vorkommen. Sicher ist es, dass mit Erhöhung der Temperatur, natürlich bis zu einem gewissen Optimum, die Bildung dieser labilen Gruppen und auch infolge dessen die Oxydation intensiver werden. Die Wärme ist es auch, welche, wie bei der Bebrütung der Vogeleier, die Umwandlung des inerten Eiweisses in das labile veranlasst.

Bern, im August 1885.

---

# Ueber die Farbstoffe der melanotischen Sarkome

von

**J. Berdez** und **M. Nencki.**

Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **20**, 346 und Recherches chimiques sur deux pigments pathologiques (Mélanines) par J. Berdez. Revue médic. de la Suisse Romaine No. 6. Diese letzte Arbeit wurde als Inaugural-Dissertation der Universität in Bern vorgelegt.

Im Januar dieses Jahres kam auf der hiesigen medicinischen Klinik ein Fall zur Section in Folge eines multiplen melanotischen Sarkoms. Der Patient, Namens Durtschi, von Innertkirchen, Canton Bern, Landarbeiter, 41 Jahre alt, bemerkte im Frühjahre 1884, dass ein auf seinem Rücken befindliches Muttermal sich vergrössere. Gegen Ende October liess er sich den Tumor, der damals die Grösse eines Hühnereies erreicht hatte, exstirpiren. Kurz nach der Operation bemerkte Durtschi ein Gefühl von Schwere im Unterleibe, das ihm immer lästiger wurde. Zu gleicher Zeit sah er, dass die Farbe seiner Haut dunkler werde und auch der gelassene Urin eine dunkle Farbe habe. Im December liess er sich in das Inselspital in Bern in die Klinik des Prof. Lichtheim aufnehmen. Es wurden hier mehrere Recidivknoten rings um die Narbe am Rücken constatirt, sowie ein enormer Lebertumor. Der Harn hatte eine braunschwarze Farbe. Der Tod erfolgte am 10. Januar 1885. Bei der am gleichen Tage vorgenommenen Autopsie wurden unzählige Metastasen des pigmentirten Neoplasma fast in allen Organen constatirt, sei es in Form von Flecken, sei es in Form von Tumoren von allen möglichen Dimensionen. Die Leber war derart vergrössert, dass sie frisch gewogen ein Gewicht von 5.9 kg hatte. Ausser Knorpel, Nerven und Muskeln waren die sämmtlichen übrigen Gewebe des Körpers braunroth gefärbt. Die mikroskopische Untersuchung bestätigte, dass hier ein melanotisches Sarkom von alveolarer Structur vorlag. Herr Prof. Langhans, welcher die Section machte, hatte die grosse Freundlichkeit, uns die beiden Organe, welche die grösste Menge des Pigmentes enthielten — die Leber und die Milz — behufs einer chemischen Untersuchung zu überlassen.

Der Zufall wollte, dass wir einige Tage später ein Melanosarkom des Pferdes zur Untersuchung erhielten. Ein für die hiesige Veterinäranatomie bestimmter

Schimmel enthielt zahlreiche Metastasen dieser Geschwulst bis zur Kindskopfgrösse. Herrn Prof. Flesch sind wir für die Zusendung des Materials zu besonderem Danke verpflichtet.

Bevor wir die Resultate unserer Untersuchung des Pigmentes der Melanosarkome von Menschen und Pferd mittheilen, scheint es uns zweckmässig, die bisherigen Vorstellungen über die Natur und Herkunft dieser Farbstoffe kurz zu recapituliren.

Mit dem Namen Melanin werden bezeichnet das Pigment der Iris und der Chorioidea, der schwarze Farbstoff der Haut, der Haare, der Pia mater, der Nervenzellen, der Froscheier, der Sepia u. s. w. Sodann die verschiedenen pathologischen Farbstoffe, wie bei der Bronzekrankheit, Malaria, gelbem Fieber, Cholera und endlich bei den Pigmentgeschwülsten. Von verschiedenen Autoren, zumal den älteren [1]), wurden diese Melanine als identisch angesehen. In dem Maasse, als durch fortschreitende Untersuchungen Differenzen im chemischen und physikalischen Verhalten der Melanine verschiedenen Ursprungs erkannt wurden, wurde diese Ansicht verlassen, und wir wollen hier die Ansicht von Heurtaux [2]) anführen, welche auch von den meisten Pathologen getheilt wird. „Il me semble probable que le pigment pathologique, différant en cela du pigment physiologique, n'est pas absolument identique dans tous les cas; les différences notables constatées dans les caractères chimiques et physiques, dans les tumeurs de ce groupe morbide, sont de nature à le faire supposer. Il serait intéressant de pouvoir saisir ces nuances par des analyses chimiques comparatives, mais les recherches de cette nature, d'une extrême difficulté, n'ont pas encore été faites.“ Hinsichtlich der Entstehung der pathologischen Melanine sind dagegen die Ansichten der meisten Autoren ziemlich übereinstimmend. Fast allgemein wird angenommen, dass sie vom Blutfarbstoff abstammen. Hier einige Citate, den gebräuchlichsten Handbüchern entnommen.

„Les divers pigments paraissent avoir une même origine que l'on suppose être la matière colorante du sang [3]).“

„Ce pigment provient d'une transformation chimique de l'hématine [4]).“

„Die Melanosen sind anfänglich weiss, nach und nach werden sie durch eine Umbildung des Blutfarbstoffs (Hämatin) gefärbt [5]).“

Gegen die Abstammung der Melanine vom Blutfarbstoff wurden jedoch wiederholt Bedenken ausgesprochen. Cornil und Ranvier bestreiten sie; denn das schwarze Pigment findet sich bei Embryonen von Batrachiern und Tritonen, noch bevor sie rothes Blut haben, und bei der Sepia werde Melanin gebildet, wenn auch das Blut keine rothen Blutkörperchen enthalte.

Chemische Analysen der uns hier interessirenden Farbstoffe sind bis jetzt nur wenige ausgeführt worden. Aus der Beschreibung der Isolirungsmethoden geht

---

[1]) Vgl. z. B. Ch. Robin et F. Verdeil. Traité de chimie anatomique etc. Paris 1853. 3, 392.

[2]) N. dict. de méd. et de chir. de Jaccoud. Art. Mélanose.

[3]) Gautier, Chimie appliquée à la physiol. Paris 1874.

[4]) Hurtel d'Arboval, Diction. de méd. de chir. et d'hyg. vét.

[5]) Stockfleth, Handbuch der thierärztl. Chirurgie. Leipzig 1879.

auch hervor, dass die analysirten Präparate unmöglich rein sein konnten. Dabei wurde ein wesentlicher Bestandtheil derselben, nämlich der Schwefel, gänzlich übersehen. In den Dictionnaires von Jaccoud und Bouley sind die Ergebnisse chemischer Untersuchungen der früheren Autoren zusammengestellt. In Folgendem wollen wir die von uns erzielten Resultate beschreiben.

## Phymatorhusin.

Mit diesem Namen, von φυμα Geschwulst und ῥουσιος rothbraun, werden wir den von uns aus dem menschlichen melanotischen Sarkom isolirten Farbstoff bezeichnen. Die Leber und Milz des oben beschriebenen Falles wurden klein zerhackt und mit dem zehnfachen Gewicht siedenden 93 proc. Alkohols digerirt, sodann filtrirt und auf dem Filter mit absolutem Alkohol nachgewaschen. Der Filterrückstand wurde jetzt in einem grossen Extractionsapparate, ähnlich dem, den der Eine von uns [1]) bei den Analysen der Fäulnissbacterien anwendete, mit Aetherdämpfen extrahirt. Die Aetherextraction wurde so lange fortgesetzt, bis der zurückfliessende Aether nur Spuren von Rückstand hinterliess. Auf die Weise wurden aus dem Gewebe Fett, Cholesterin, die in Alkohol löslichen Substanzen und auch das Wasser entfernt. Zur Entfernung des Aethers wurde der Filterrückstand jetzt auf dem Wasserbade getrocknet und mit dem vierfachen Gewichte kalter 1 proc. Kalilösung extrahirt. Die alkalische Flüssigkeit färbt sich sofort tief braunroth; man rührt um, lässt hierauf absetzen und decantirt und filtrirt nach etwa einer Viertelstunde. Der Rückstand wird auf die Weise noch etwa zwei Mal mit 1 proc. Kalilauge behandelt. In der Regel bleiben nach der dritten Extraction nur noch geringe Mengen des Farbstoffs ungelöst zurück. Der erste Auszug enthält die Hauptmenge des Pigments und die wenigsten Verunreinigungen. Die filtrirten alkalischen Lösungen des Phymatorhusins werden mit Salzsäure neutralisirt, wodurch der Farbstoff in braunrothen Flocken gefällt wird. Der Niederschlag, aus Phymatorhusin und etwas Eiweiss bestehend, wird abfiltrirt und zunächst auf Fliesspapier, sodann auf dem Wasserbade und schliesslich im Luftbade bei 110° längere Zeit getrocknet. Es ist rathsam, den Niederschlag nicht allzu lange auf Fliesspapier zu trocknen, damit keine Papierfasern anhaften. Durch das Trocknen bei 110° wird das Eiweiss weniger leicht löslich in Alkali. Der trockene und fein pulverisirte Niederschlag wird jetzt zum zweiten Male in 1 proc. Kalihydrat in der Kälte geschüttelt und gleich filtrirt. Bei solch raschem Operiren bleibt der grösste Theil des verunreinigenden Eiweisses ungelöst zurück. Völlig eiweissfrei wird das Phymatorhusin erst erhalten, wenn das nunmehr ausgefällte und getrocknete Product mit verdünnter Salzsäure am Rückflusskühler gekocht wird. Wir verwendeten dazu das 20 fache Gewicht 10 proc. Salzsäure und erhitzten am Rückflusskühler ein bis zwei Stunden lang; dabei geht ein Theil des Phymatorhusins in Lösung. Der ungelöste Rückstand wurde abfiltrirt und so lange mit heissem Wasser gewaschen, bis das Filtrat durch Silbernitrat nicht getrübt wurde. Jetzt wurde das Product noch mit Alkoholäther gewaschen, bei 110° getrocknet und analysirt. Die analysirte Substanz bestand

[1]) Journ. f. prakt. Chem. **20**, 443. 1879. — Dieser Band S. 477.

unter dem Mikroskope aus schwarzbraunen homogenen Körnern, die in Wasser, Alkohol und Aether gänzlich unlöslich sind. In Ammoniak, fixen und kohlensauren Alkalien ist das Phymatorhusin leicht löslich und wird aus diesen Lösungen durch genaue Neutralisation mit Säure vollständig ausgefällt. Ueberschuss an Säure löst einen Theil der Substanz wieder auf, indem das Phymatorhusin in Mineralsäuren oder auch Essigsäure ein wenig löslich ist, und die Löslichkeit nimmt mit der Concentration der Säure bedeutend zu. Auch im sauren Harn, namentlich in der Wärme, ist das Phymatorhusin ein wenig löslich. Die verdünnten alkalischen Lösungen des Farbstoffs haben eine schöne braunrothe Farbe, concentrirtere Lösungen sind dunkelschwarz. Weder saure, noch alkalische Lösungen zeigen im Spectrum irgend welche Absorptionsstreifen. Von Salpetersäure wird das Phymatorhusin leicht angegriffen, wobei ein gelbes amorphes Product entsteht. Die alkalische Lösung des Phymatorhusins wird durch Chlor sofort entfärbt. Kalte concentrirte Schwefelsäure löst es kaum auf. Beim gelinden Erwärmen geht ein Theil in Lösung und wird durch Wasserzusatz ausgefällt. Auf Platinblech trocken erhitzt, entwickelt das Phymatorhusin eigenthümlich saure und gleichzeitig nach Pyrrol riechende Dämpfe. Wird dabei der Geruch nach verbranntem Horn wahrnehmbar, so ist das Phymatorhusin nicht rein und mit Eiweissstoffen vermengt. Wie oben erwähnt, geht ein Theil des Phymatorhusins, mit Salzsäure gekocht, in Lösung. Beim Erkalten des heissen Filtrates oder auch beim Eindampfen scheidet sich der Farbstoff in amorphen Körnern ab, die frisch abgeschieden in Wasser leicht löslich sind, bei 110° getrocknet, aber vollkommen unlöslich darin werden. Die Elementaranalyse des aus der salzsauren Lösung abgeschiedenen Productes ergab die gleiche procentische Zusammensetzung wie die des in Salzsäure ungelöst gebliebenen Phymatorhusins. Die qualitativen Versuche zeigten uns, dass das Phymatorhusin ausser Kohlenstoff, Wasser und Stickstoff auch noch beträchtliche Quantitäten von Schwefel enthält. Dagegen enthält es weder Eisen, noch Chlor oder Phosphor. Das Phymatorhusin ist stark hygroskopisch, so dass alle Wägungen für die Analysen in verschlossenen Gläsern ausgeführt werden mussten.

Die Ermittelung der empirischen Formel bietet bei krystallisirenden Verbindungen, namentlich wenn sie mit Säuren oder Alkalien Doppelverbindungen geben, in der Regel keine allzu grossen Schwierigkeiten. So ist es z. B. aus den Häminkrystallen durch Elementaranalyse derselben und die Ueberführung der Häminkrystalle in Hämatin möglich gewesen, ihr Molekulargewicht, d. h. die empirische Formel festzustellen. Anders ist es bei amorphen Substanzen, namentlich wenn ihre Verbindungen mit Säuren oder Metallen unbeständig, leicht zersetzbar und ebenfalls amorph sind. Die Controle, resp. Garantie für die Reinheit solcher Substanzen liegt entweder erstens in der fractionirten Fällung und Uebereinstimmung der procentischen Zusammensetzung der successiven Niederschläge (ein Verfahren, welches z. B. in der Eiweisschemie mit Nutzen angewendet wird), oder zweitens in der Uebereinstimmung der procentischen Zusammensetzung der nach verschiedenen Methoden isolirten und gereinigten Substanz.

Aus unseren Elementaranalysen geht hervor, dass unsere Präparate noch nicht absolut rein waren. Die sehr nahe liegenden Zahlen jedoch, die wir für das von

Salzsäure ungelöste und das aus der salzsauren Lösung beim Eindampfen abgeschiedene Phymatorhusin erhielten, sprechen dafür, dass wir ein einziges chemisches Individuum mit nur Spuren fremder Beimischungen analysirten. Es ist sicher, dass das chemisch reine Phymatorhusin ziemlich die gleiche procentische Zusammensetzung haben wird wie unsere Präparate.

Phymatorhusin mit Salzsäure gekocht, das Ungelöste mit $H_2O$ ausgewaschen und bei 110° getrocknet.

0.2514 g der Substanz mit chromsaurem Blei in offenem Rohre verbrannt gaben 0.494 g $CO_2$, 0.0955 g $H_2O$ und 0.0029 g Asche, vorwiegend aus Kieselsäure neben Spuren von Erdphosphaten bestehend. In Procenten gefunden: 1.11 Proc. Asche und 53.58 Proc. C und 4.22 Proc. H aschefrei berechnet.

0.2605 g des gleichen Präparates gaben 0.5095 g $CO_2$ und 0.0977 g $H_2O$ oder 53.90 Proc. C und 4.21 Proc. H aschefrei berechnet.

0.2814 g des gleichen Präparates nach Abzug der Asche gaben 26 ccm N-Gas bei 12.5° und 712 mm Bst. oder 10.59 Proc. N.

0.251 g aschefreie Substanz in zugeschmolzenem Rohre mit Salpetersäure oxydirt gaben 0.2334 g $SO_4Ba$ oder 10.13 Proc. S.

0.4678 g des gleichen Präparates gaben ebenfalls nach der Carius'schen Methode 0.3419 g $SO_4Ba$ oder 10.04 Proc. S.

Wie oben erwähnt, ist das Phymatorhusin in verdünnten Mineralsäuren löslich und die Löslichkeit nimmt mit der Wärme und der Concentration der Säure zu. Ein grosser Theil des Phymatorhusins löst sich daher beim Kochen mit Salzsäure auf und scheidet sich theilweise beim Erkalten des heissen Filtrates, theilweise beim Eindampfen auf dem Wasserbade aus. Das in homogenen amorphen Körnern beim Erkalten abgeschiedene Product ist in Wasser leicht löslich und kann deshalb durch Waschen auf dem Filter von der Salzsäure nicht befreit werden. Wird aber die Mutterlauge von dem Bodensatz decantirt, der letztere auf ein Filter gebracht und zunächst auf Fliesspapier, sodann bei 110° getrocknet, so ist das Product wieder in Wasser unlöslich geworden und kann nunmehr durch Vertheilen in Wasser von den letzten Resten des Chlorwasserstoffs befreit werden. Möglich, dass das Phymatorhusin durch Hydratation wasserlöslich geworden ist und das wasserlösliche Product durch Trocknen in die anhydritische Form übergeht. Vielleicht aber verbindet sich das Phymatorhusin mit Salzsäure, ähnlich wie das Fluoresceïn, das Resaceteïn oder die Melinointrisulfonsäure zu einem löslichen Salz, das aber schon beim Trocknen ClH verliert. Das auf die obige Weise abgeschiedene, bis zum Verschwinden der Chlorreaction ausgewaschene und bei 110° getrocknete Phymatorhusin ergab folgende Zahlen:

0.273 g der Substanz gaben 0.5209 g $CO_2$, 0.0929 g $H_2O$ und 0.0064 g Asche oder in Procenten: 53.28 Proc. C und 3.87 Proc. H ascherfrei berechnet.

0.507 g der Substanz gaben 46.2 ccm N-Gas bei 15.5° und 717 mm Bst. oder 10.06 Proc. N.

Ein zweites, von einer anderen Darstellung herrührendes, aus heisser Salzsäure abgeschiedenes, ganz homogenes Präparat war ganz aschefrei und lieferte folgende Zahlen:

0.2126 g gaben 0.414 g $CO_2$ und 0.0732 g $H_2O$ oder 53.10 Proc. C und 3.82 Proc. H.

0.3053 g der Substanz mit Kali und Salpeter geschmolzen gaben 0.2551 g $SO_4Ba$ oder 11.48 Proc. S.

0.3063 g des gleichen Präparates mit Salpetersäure in zugeschmolzenem Rohre erhitzt gaben 0.2461 g $SO_4Ba$ oder 11.05 Proc. S.

0.2348 g der Substanz gaben 24.2 ccm N-Gas bei 17° und 706 mm Bst., entsprechend 11.01 Proc. N.

Durch Kochen mit 10- bis 20 proc. Essigsäure kann das Phymatorhusin von dem verunreinigenden Eiweiss nicht getrennt werden. Als wir das rohe Product mit dem 20fachen Gewichte 20proc. Essigsäure eine Stunde lang am Rückflusskühler erhitzten, gingen etwa drei Viertel der Substanz in Lösung. Sie wurde filtrirt und auf dem Wasserbade auf etwa ein Drittheil des ursprünglichen Volumens eingedampft. Das jetzt beim Erkalten ausgeschiedene Product wurde abfiltrirt, mit Wasser nachgewaschen und bei 110° getrocknet. Schon beim Verbrennen auf Platinblech, wobei die Substanz den Geruch nach verbranntem Horn verbreitete, konnte man sehen, dass sie nicht ganz eiweissfrei war. Die Elementaranalyse bestätigte diese Vermuthung.

0.3685 g der Substanz gaben 0.7108 g $CO_2$, 0.1713 g $H_2O$ und 0.0015 g oder 0.4 Proc. Asche, 54.88 Proc. C und 5.38 Proc. H.

0.3117 g gaben 33.6 ccm N-Gas bei 18.5° und 696 mm Bst., entsprechend 13.37 Proc. N.

0.4622 g mit Salpetersäure in zugeschmolzenem Rohre erhitzt gaben 0.3248 g $SO_4Ba$ oder 9.66 Proc. S.

## Hippomelanin.

Als Hippomelanin bezeichnen wir den schwarzen Farbstoff der melanotischen Sarkome der Pferde. Die Tumoren, die uns zur Darstellung des Farbstoffs dienten, stammten von einem alten Schimmel, der für Zwecke der hiesigen Veterinäranatomie getödtet wurde. Das Thier hatte deren eine ganze Menge von verschiedenem Durchmesser. Die grössten waren etwa kindskopfgross. Die anatomische Untersuchung der Geschwulst ergab, dass es ein Melanosarkom war. Der vorzüglichen Beschreibung der melanotischen Tumoren der Pferde von Trasbot in dem Dictionnaire von Bouley [1]) erlauben wir uns Folgendes zu entnehmen:

Trasbot unterscheidet bei den Pferden zwei Arten der pigmentirten Geschwülste: 1. melanotische Fibrome, einfache Hipperplasien des Bindegewebes, schwarzen Farbstoff enthaltend, ohne Tendenz zur Generalisation, und 2. die melanotischen Sarkome. Als Sarkome bezeichnet Trasbot diese Geschwülste hauptsächlich wegen ihrer Neigung zur Metastasenbildung und des anhistioiden Charakters, ohne dass diese Geschwülste deshalb besonders malignen Charakter hätten. Pferde mit Melanosarkomen können sich ganz wohl befinden und erreichen ein hohes Alter. Die Tumoren können lästig werden durch ihren Umfang und mechanische Hindernisse,

[1]) Nouveau Dictionnaire de médecine etc. vet. **12**. Paris 1883. Art. Mélanose.

die sie der Function anderer Organe bereiten. Seltener erschöpfen sie den Organismus durch rasche und zahlreiche Metastasen, deren Erweichung und Erguss des Inhaltes in wichtige Organe, wie z. B. die Lungen. Eine bemerkenswerthe und allen Thierärzten bekannte Thatsache ist es, dass fast nur Schimmel von diesem Uebel befallen werden, als ob der normale Farbstoff der Haare sich in das Bindegewebe zurückgezogen hätte. Doch sind Fälle von melanotischen Tumoren auch bei Braunen und Füchsen bekannt. „Il y a vingt ans, on n'aurait pas visité une écurie de poste ou de roulage, sans en trouver plusieurs spécimens. Aujourd'hui, bien qu'il soit plus rare, on le rencontre encore journellement", erzählt Trasbot.

Die primäre Geschwulst entwickelt sich fast stets in dem Unterhautzellgewebe in der Umgebung des Afters, an der inneren Seite des Schweifes und den äusseren Genitalien, an der Vorhaut bei Hengsten, Scheide und Brüsten bei den Stuten. Die Tumoren treten schon frühzeitig auf, in den ersten Lebensjahren. Anfangs sehr klein und isolirt, bilden sie später knollige rundliche Massen. Sie werden öfters faustgross und noch grösser. Die grösseren Massen können durch Zerschneiden in runde, unter einander mehr oder weniger zusammenhängende Fragmente getrennt werden. Die Fasern und Bündel, welche das Gerüst der Geschwulst bilden, gehen ohne Demarcation in die benachbarten Organe über. Die Farbe dieser Tumoren ist merklich verschieden; schiefergrau, mehr oder weniger dunkel in den oberflächlichen Schichten, sind sie in der Mitte stets schwarz. Auf dem Querschnitte glatt. Bei Druck fliesst eine dicke schwarze, der Sepia ähnliche Flüssigkeit aus. Im Centrum sind diese Tumoren immer weicher als an der Peripherie, so dass die grösseren in der Mitte erweicht und flüssig werden. Unter dem Mikroskope sieht man in den erweichten Massen zahlreiche runde, schwarze Körperchen von etwa 9 $\mu$ Durchmesser und darunter. Der grösste Theil der Zellen ist derart verändert, dass an ihnen weder Kern noch Kernkörperchen zu erkennen ist. Auch das Protoplasma scheint in Lösung gegangen zu sein, so dass man nichts anderes als nur einen Haufen von Pigmentgranulationen sieht. Es ist jedoch nicht schwer, auch Elemente zu finden, an welchen man den ursprünglichen Charakter der Geschwulst enträthseln kann, und daneben auch solche, deren Structur noch ganz erhalten ist. Man sieht dann sehr gut, dass es entweder fibroplastische Zellen sind mit zwei oder drei fadenförmigen Fortsätzen, manchmal ramificirt, 20 bis 50 $\mu$ lang, mit ovalem Kern, 9 bis 12 $\mu$ im Durchmesser und glänzenden Kernkörperchen; oder es sind auch runde Zellen von noch grösserem Durchmesser mit zwei und mehreren Kernen in Vermehrung begriffen; oder endlich spindelförmige Zellen mit ovalem Kern; mit einem Worte alle die Elemente der embryoplastischen und fibroplastischen Sarkomgeschwülste von Ch. Robin.

Die secundären Melanosarkome treten auf in allen Organen, besonders wo das Bindegewebe reichlich ist, so in dem Becken, im Thorax, in den Lymphdrüsen und in den Muskeln. In den grossen Interstitien mit reichlichem losen Bindegewebe begegnet man Tumoren, deren Gewicht 4 bis 5 kg und darüber beträgt. Mehr brüchig als die primäre Geschwulst haben sie die gleiche Structur. Der Unterschied besteht einzig darin, dass das Bindegewebsgerüst feiner und weniger dicht ist. Nach Verlauf einiger Zeit erweichen sie in ihrem Centrum und werden nekrobiotisch; ge-

löste Bestandtheile werden langsam resorbirt, es kommt aber nicht zur Ulceration oder Vereiterung.

Die Tumoren in unserem Falle waren im Innern ganz erweicht, so dass beim Durchschneiden eine schwarze, tintenartige Flüssigkeit herausfloss. Unter dem Mikroskope sah man runde Zellen mit Pigmentkörnern als Inhalt. Die Flüssigkeit um die Zellen war farblos. Sie enthielt aber unzählige freie Pigmentkörner in lebhafter Molekularbewegung und erinnert dadurch, sowie durch ihre Kleinheit und Gleichförmigkeit an Mikrococcen. Auch mit den stärksten Vergrösserungen war an den Körnern keine krystallinische Structur zu erkennen.

Die zerhackten Tumoren wurden, wie bei der Darstellung des Phymatorhusins, zunächst mit Alkohol und Aether vollkommen extrahirt, sodann auf dem Sandbade mit 1 proc. Kalilauge zum Kochen erhitzt, wodurch die Zellmembran gelöst und die Pigmentkörner in der Flüssigkeit frei suspendirt werden. Sie sind so klein, dass sie durch die Poren des von uns benutzten Fliesspapiers (von Schleicher und Schüll) hindurchgingen. Wir benutzten diesen Umstand, um auf diese Weise gleich einen Theil des Pigments zu isoliren. Auf dem heissen alkalischen Filtrate setzten sich die Pigmentkörner bei ruhigem Stehen am Boden des Gefässes ab, so dass die darüber stehende Flüssigkeit decantirt werden konnte. Viel von dem Farbstoff erhält man zwar auf diese Weise nicht, denn die Poren verstopfen sich bald und die Flüssigkeit läuft bräunlich gefärbt, aber klar durch. Der grösste Theil des Farbstoffs findet sich in dem alkalischen Filtrat theils gelöst, theils suspendirt. Um ihn daraus zu isoliren, wird die Flüssigkeit zum Sieden erhitzt und mit Salzsäure im Ueberschusse versetzt. Der Farbstoff mit Eiweiss vermengt fällt nieder. Man lässt absetzen, decantirt, bringt den Niederschlag auf ein Filter und wäscht mit Wasser aus. Um das beigemengte Eiweiss zu entfernen, haben wir auch hier das Rohproduct mit 20 proc. Essigsäure oder 10 proc. Salzsäure 2 bis 3 Stunden lang am Rückflusskühler gekocht. Die saure Flüssigkeit wurde heiss filtrirt, der Filterrückstand bis zum Verschwinden der Chlorreaction ausgewaschen und Anfangs auf Fliesspapier, hernach bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknet.

Das so erhaltene Hippomelanin bildet amorphe, homogene schwarze Körner, unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether und in der Kälte in Säuren und Alkalien. Mit verdünnten Säuren oder Alkalien erwärmt, löst es sich nur wenig und langsam darin auf. Die gelbbraunen Lösungen zeigen im Spectrum keine Absorptionsstreifen. Das Hippomelanin ist sehr beständig. Von concentrirter Schwefelsäure wird es selbst beim Erwärmen nicht zersetzt. Allmählich löst es sich darin auf und kann durch Wasserzusatz unverändert abgeschieden werden; erst bei fortgesetztem Kochen wird es oxydirt und es entweicht schweflige Säure. Mit Aetzalkalien kann es lange ohne jede Veränderung gekocht werden. Erst beim Schmelzen mit Kali wird es angegriffen. Durch Chlor wird es langsam entfärbt. Concentrirte Salpetersäure oxydirt es verhältnissmässig leicht. Aus der salpetersauren Lösung fällt nach Wasserzusatz ein gelbes amorphes Product. Auf Platinblech erhitzt, stösst es Anfangs unangenehm sauer, gleichzeitig nach Pyrrol riechende Dämpfe aus und hinterlässt sehr schwer verbrennbare Kohle. Wie das Phymatorhusin ist es schwefelhaltig und enthält weder Eisen, noch Chlor oder Phosphor. Trocken ist es noch hygro-

skopischer als das Phymatorhusin. Die Elementaranalysen des Hippomelanins ergaben uns folgende Zahlen:

I. Präparat mit verdünnter Salzsäure gekocht enthielt noch 0.66 Proc. Asche aus Erdphosphaten bestehend.

0.2444 g mit chromsaurem Blei verbrannt gaben 0.4779 g $CO_2$ und 0.0841 g $H_2O$ oder 53.67 Proc. C und 3.84 Proc. H aschefrei berechnet.

0.2935 g der Substanz mit Salpetersäure im Rohre erhitzt, bis kein Druck mehr vorhanden war, gaben 0.0585 g $SO_4Ba$ oder 2.76 Proc. S.

0.419 g gaben ebenfalls nach der Carius'schen Methode 0.0902 g $SO_4Ba$ oder 2.98 Proc. S.

II. Hippomelanin zuerst mit Essigsäure, sodann mit 10 proc. Salzsäure ausgekocht. Das Präparat enthielt nur 0.14 Proc. Asche.

0.2411 g gaben 0.4762 g $CO_2$ und 0.0859 g $H_2O$ oder 53.52 Proc. C und 3.92 Proc. H.

0.2327 g gaben 22.4 ccm N-Gas bei 12° und 717 mm Bst. oder 10.48 Proc. N.

0.3661 g der Substanz mit Salpetersäure in zugeschmolzenem Rohre oxydirt gaben 0.0743 g $SO_4Ba$ oder 2.78 Proc. S.

III. Hippomelanin aus der alkalischen Lösung als Sediment abgeschieden und mit 10 proc. Salzsäure ausgekocht.

0.3265 g in offenem Rohre im Sauerstoffstrome verbrannt, gaben 0.6592 g $CO_2$, 0.1089 g $H_2O$ und 0.0032 g Asche oder 55.60 Proc. C und 3.74 Proc. H aschefrei berechnet.

0.2483 g = 0.2459 g aschefrei der gleichen Substanz gaben 24.6 ccm N-Gas bei 16° und 709 mm Bst. oder 10.87 Proc. N.

0.2215 g ebenfalls als Sediment aus alkalischer Lösung abgeschiedenes und mit Salzsäure ausgekochtes Hippomelanin, von einer anderen Darstellung herrührend, in offenem Rohre verbrannt, gaben 0.4492 g $CO_2$, 0.0774 g $H_2O$ und 0.0013 g Asche oder 55.62 Proc. C und 3.90 Proc. H aschefrei berechnet.

0.3388 g des gleichen Präparates mit Kali und Salpeter geschmolzen, gaben 0.0694 g $SO_4Ba$ oder 2.81 Proc. S.

Der Uebersicht halber stellen wir die für das Phymatorhusin und das Hippomelanin erhaltenen Zahlen zusammen.

Phymatorhusin.

| | C | H | N | S | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 53.58 | 4.22 | 10.59 | 10.13 | mit HCl extrahirt. |
| 2. | 53.90 | 4.21 | — | 10.04 | |
| 3. | 53.28 | 3.87 | 10.06 | — | aus salzsaurer Lösung. |
| 4. | 53.10 | 3.82 | 11.01 | 11.48 u. 11.05 | aus salzsaurer Lösung abgeschieden und ganz aschefrei. |

Hippomelanin.

| | C | H | N | S | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 53.67 | 3.84 | — | 2.76 u. 2.98 | mit Salzsäure ausgekocht. |
| 2. | 53.52 | 3.92 | 10.48 | 2.78 | |
| 3. | 55.60 | 3.74 | 10.87 | — | Sediment aus der alkalischen Lösung mit Salzsäure ausgekocht. |
| 4. | 55.62 | 3.90 | — | 2.81 | |

Wie aus dieser Zusammenstellung hervorgeht, besteht nicht die geringste chemische Beziehung zwischen den Farbstoffen der melanotischen Sarkome und dem Blutfarbstoff. Das Hämatin enthält Eisen, aber kein Schwefel. Die Vorstellung, dass das melanotische Pigment durch Umbildung des Blutfarbstoffs entstehe, muss fallen gelassen werden. Eigenthümlich und interessant für die beiden Sarkomfarbstoffe ist der niedrige Wasserstoff- und Stickstoff- und der hohe Schwefelgehalt, der beim Phymatorhusin mehr als 10 Proc. beträgt. Da wir bei den Elementaranalysen verschiedener Präparate keine scharf unter einander stimmenden Zahlen erhielten, so suchten wir aus dem Rest des vorhandenen Materials irgendwie gut definirbare Spaltungsproducte darzustellen. Durch Salpetersäure werden beide Farbstoffe verhältnissmässig leicht angegriffen und gelöst. Wasserzusatz fällt aus der Lösung amorphe gelbliche Producte, die weder als solche, noch in Verbindung mit Alkalien krystallinisch zu erhalten waren. Auch durch Chlor oder Brom waren aus den beiden Farbstoffen keine fassbaren Producte erhältlich. Trocken konnten sie anscheinend ohne Veränderung sehr hohe Temperaturen vertragen. Als wir aber in einem Versuche etwa $^1/_2$ g Phymatorhusin in einem Reagensröhrchen im Schwefelsäurebade auf etwa 300° erhitzten und hierauf nach dem Erkalten die Substanz in verdünnter Natronlauge lösen wollten, ging nur ein geringer Theil in Lösung und gleichzeitig entwickelte die Flüssigkeit einen starken Geruch nach Pyridin. Aehnlich verhielt sich das Hippomelanin, nur war der Pyridingeruch etwas schwächer. Dagegen erhielten wir aus beiden Farbstoffen durch Schmelzen mit Kalihydrat eine Reihe von Spaltungsproducten, deren vollständige Isolirung uns zwar nicht gelang, jedoch sind die erhaltenen Resultate geeignet, einiges Licht über die Natur der beiden Körper zu verbreiten.

5 g reines, aus der salzsauren Lösung abgeschiedenes Phymatorhusin wurden in einer Silberschale mit etwas Wasser befeuchtet und mit 40 g KOH erhitzt. Bei 210 bis 220° kam die Masse in Fluss. Ammoniak wurde nur wenig entwickelt, jedenfalls weit weniger, als wie unter gleichen Bedingungen aus Eiweiss entstanden wäre, dagegen roch die Schmelze stark nach Skatol. Das Erhitzen wurde fortgesetzt, bis die ursprünglich rothe Farbe graugelb wurde; Kohle wurde dabei nicht abgeschieden. Die erkaltete Schmelze wurde klein gestossen, in eine tubulirte Retorte gebracht und allmählich mittelst eines in den Tubus eingebrachten Scheidetrichters mit Wasser übergossen. Beim Destilliren ging Anfangs Skatol über, das aus dem Destillate durch Zusatz von Salzsäure und etwas Pikrinsäure in der in rothen Nadeln krystallisirenden Pikrinsäureverbindung abgeschieden wurde. Der alkalische Rückstand wurde mit einer Lösung von 70 g Oxalsäure allmählich versetzt und von Neuem destillirt. Das widrig riechende Destillat, ähnlich wie bei der Eiweiss-Kalischmelze, enthielt flüchtige Fettsäuren, Nitrile, viel Blausäure und Schwefelwasserstoff und daneben eine flüchtige, organische, schwefelhaltige Säure. Eine genaue Charakterisirung war bei der geringen Menge der Producte nicht möglich. Phenol, auf das besonders geachtet wurde, konnte in dem sauren Destillate nicht nachgewiesen werden. Der Retortenrückstand wurde jetzt mit Wasser aufgenommen, filtrirt, das Filtrat eingedampft und successive mit Aether und Alkohol extrahirt. Der ätherische Auszug hinterliess einen phenolartigen, harzigen Körper,

der sich mit Eisenchlorid blauschwarz färbte, aber nicht krystallinisch zu erhalten war. Leucin oder Tyrosin konnten weder in den alkoholischen noch wässerigen Auszügen nachgewiesen werden.

Ein ähnlicher Versuch wurde mit dem Hippomelanin angestellt. 50 g Kalihydrat wurden in einer Silberschale mit etwas Wasser befeuchtet, die Masse in Fluss gebracht und allmählich 10 g Hippomelanin zugesetzt. Die erste Einwirkung besteht darin, dass das in Kali nur wenig lösliche Hippomelanin löslich wird und in ein schwarzes Product von sauren Eigenschaften übergeht. Die Schmelze wurde etwa eine Stunde bei mässiger Hitze erhalten, und da die schwarze Farbe nicht verschwand, hörten wir mit dem Erhitzen auf. Die erkaltete Schmelze wurde zunächst in Wasser gelöst, filtrirt und aus dem Filtrate durch verdünnte Schwefelsäure das schwarze lösliche Product ausgefällt. Das Filtrat davon, ebenfalls von widrigem Geruch, enthielt viel Ameisensäure, Blausäure und wahrscheinlich auch höhere Nitrile. Auch hier konnte kein Phenol und auch kein Leucin oder Tyrosin als Spaltungsproduct nachgewiesen werden. Dagegen erhielten wir aus den alkoholischen und ätherischen Extracten eine Säure, die alle Eigenschaften der Bernsteinsäure besass. Sie krystallisirte in rhombischen Prismen und Blättchen, Eisenoxydsalze erzeugten in ihren mit Ammoniak neutralisirten Lösungen einen rothbraunen Niederschlag. Auf Platinblech erhitzt, entwickelte sie die charakterischen, zum Husten reizenden Dämpfe. Mit einer Spur Resorcin zusammengeschmolzen, gab sie die intensive Reaction auf Succinylfluoresceïn und für sich trocken erhitzt, sublimirte sie unter theilweisem Wasserverlust. Leider hatten wir von dem reinen Producte zu wenig, um eine Elementaranalyse ausführen zu können. Von besonderem Interesse für uns war das nächste schwarze Umwandlungsproduct des Hippomelanins. Der Körper ist in verdünnten Alkalien leicht löslich und wird aus diesen Lösungen durch Säuren in amorphen schwarzen Flocken gefällt. Die ammoniakalische Lösung des Körpers, zur Trockne verdunstet, hinterlässt einen schwarzen körnigen Rückstand, der in Wasser leicht löslich und jedenfalls das Ammoniaksalz dieser Substanz ist. Wir wollen sie mit dem Namen Hippomelaninsäure bezeichnen. Da die Melanosarkome der Schimmel leicht erhältlich sind, so werden wir die Hippomelaninsäure in grösseren Quantitäten darstellen und hoffen dann durch Elementaranalysen der freien Säure, sowie ihrer Salze, ihr Molekulargewicht und das des Hippomelanins feststellen zu können.

Was die Entstehung der beiden Farbstoffe betrifft, so ergiebt sich zunächst aus dem niedrigen Wasserstoffgehalt, sodann aus dem Auftreten des Skatols und Pyridins bei ihrer Zersetzung mit ziemlicher Sicherheit, dass sie in ihrem Molekül aromatische Gruppen enthalten. Es ist nicht ausgeschlossen, dass sie trotzdem aus Kohlehydraten, resp. deren nächsten Derivaten, wie z. B. Glycuronsäure und Ammoniak im Organismus gebildet werden. Noch vor Kurzem haben A. Behrmann und A. W. Hofmann [1]) die Beobachtung gemacht, dass das Amid einer Oxysäure der Fettreihe, nämlich das Citramid oder auch die Citraminsäuren, schon beim Eindampfen ihrer wässerigen Lösungen mit Salzsäure auf dem Wasserbade in eine Pyridindioxycar-

[1]) Ber. **17**, *2692*.

bonsäure (Citrazinsäure) übergehen. Bei Weitem wahrscheinlicher ist jedoch die Annahme, dass diese beiden Farbstoffe aus dem Eiweiss durch eine eigenthümliche Condensation gebildet werden. Dafür spricht vor Allem der Schwefelgehalt der beiden Substanzen, der allein vom Eiweiss abstammen kann. Bezüglich des Phymatorhusins ergiebt die nachfolgende Untersuchung von N. Sieber, dass es höchst wahrscheinlich aus dem normalen Haar- resp. Hautpigment gebildet werde, dieses letztere aber, weil ebenfalls schwefelhaltig, von dem Eiweiss abstammt.

Um eine Vorstellung zu bekommen, wie viel Phymatorhusin die Leber in unserem Falle enthielt, wurde eine Portion derselben bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknet und darin der Schwefelgehalt bestimmt. 1.416 g, mit Kali und Salpeter oxydirt, gaben 0.2887 g $SO_4Ba$. Normale frische Leber enthält durchschnittlich 71.1 Proc. $H_2O$ und 18.9 Proc. Eiweiss. 1.416 g trockener sind demnach gleich 4.902 g frischer Lebersubstanz. Auf frische Leber bezogen ist der gefundene Schwefelgehalt gleich 0.809 Proc. S. Berechnet man aus dem Eiweissgehalte der Leber den Schwefelgehalt derselben, so würde normale frische Leber 0.245 Proc. S enthalten. Nach Abzug dieser Menge von der von uns gefundenen Zahl ergiebt sich, dass in unserem Falle die frische Leber 0.564 Proc. mehr Schwefel enthielt, oder per Kilo 5,64 g. Da die Leber frisch 5.9 kg wog, so ergiebt das ein Plus von Schwefel = 33.276 g. Da ferner das Phymatorhusin 11 Proc. S enthält, so waren allein in der Leber rund 300 g trockenes Phymatorhusin enthalten. Nimmt man an, dass der Phymatorhusingehalt der übrigen Gewebe nur zwei Drittheile von dem der Leber betrug, so enthielt der Körper unseres Patienten etwa 500 g des Farbstoffs. Dabei ist das intra vitam durch den Harn entleerte Phymatorhusin ausser Acht gelassen. Hieraus ist leicht zu berechnen, wie kolossale Mengen des Eiweisses einzig und allein auf die Neubildung des Farbstoffs verwendet wurden. Es ist dies ein durchaus perverser Stoffwechsel, wo das Eiweiss so zu sagen zu Gunsten des Farbstoffs liquidirt wird, und es ist sicher, dass Stoffwechseluntersuchungen an Patienten mit hochgradig melanotischen Tumoren zu interessanten Resultaten führen werden.

Ein physiologisches Analogon zu dieser pathologischen Erscheinung ist nach den Untersuchungen Miescher's [1]) der Stoffwechsel des Rheinlachses zur Laichzeit. Die Einwanderung der Lachse, die im November am Oberrhein laichen, beginnt bei einzelnen Vorläufern schon ein Jahr früher, nimmt im Mai zu und erreicht ihre grösste Höhe im Juli. Alle Lachse, mag ihr Aufenthalt im Rheine 4, 7, 10 oder 14 Monate betragen, laichen Mitte November bis Anfang December und eilen nachher sofort wieder dem Meere zu. Während dieser ganzen Zeit nimmt der Lachs keine Nahrung zu sich. Dennoch wächst der Hoden von 0.1 bis auf 6 Proc. und der Eierstock von 0.4 auf 19 bis 27 Proc. des Körpergewichtes, mit etwa 9 Proc. des frischen Eierstockes an öligem Fett. Dabei sinkt das Körpergewicht als Ganzes. Die Quelle für das Wachsthum des Eierstockes sind die grossen Seitenrumpfmuskeln, die in hinreichendem Maasse abnehmen, um die Zunahmen des

[1]) Statistische und biologische Beiträge zur Kenntniss vom Leben des Rheinlachses. Separatabdruck aus der schweizerischen Literatursammlung zur internationalen Fischereiausstellung in Berlin 1880.

Ovariums zu decken, so dass ein volles Drittheil aller festen Bestandttheile des Körpers sich zur Laichzeit in die verschiedenen Bestandtheile des Eierstockes umwandelt.

Dieser physiologischen Liquidation des Gewebseiweisses entspricht die pathologische bei der Neubildung der Bestandtheile der Melanosarkome, und sie zeigt von Neuem, wie aus einem uns unbekannten Anlasse und unter bis jetzt unbekannten Bedingungen aus dem Eiweiss im Organismus die verschiedensten, in keiner chemischen Beziehung zu einander stehenden Producte gebildet werden können.

Bern, im August 1885.

---

# Ueber die Pigmente der Chorioidea und der Haare

von

**N. Sieber.**

Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 20, 362.

Die Ergebnisse der Untersuchung von Prof. Nencki und Dr. Berdez über die Farbstoffe der melanotischen Sarkome, wonach dieselben in keiner chemischen Beziehung zum Blutfarbstoff stehen, machten es wünschenswerth, anderen Pigmenten des Organismus nachzuforschen, von denen vielleicht das Phymatorhusin abstammen könnte. Da die Melanosarkome häufig primär am Auge entstehen, so konnte man vermuthen, dass das Phymatorhusin von dem Chorioideapigment abstammt. Analysen des Pigmentum nigrum oculi sind in den vierziger Jahren von Scherer[1]) ausgeführt worden. Leider hat er seine Präparate nicht auf den Schwefelgehalt untersucht und auch die Art, wie er es dargestellt hat, lässt vermuthen, dass sein Pigment nicht ganz frei von Eiweiss war. Scherer streifte unter destillirtem Wasser mit einem Haarpinsel das Pigment der Chorioidea ab, welches sich nach und nach zu Boden setzte. Das Pigment wurde sodann in Wasser zerrührt, auf ein leinenes Filter gebracht, um die allenfalls mit losgelösten Membrantheilchen der Chorioidea davon zu trennen. Die durchgelaufene Flüssigkeit wurde eingedampft und der Rückstand mit Alkohol und Aether ausgekocht, sodann analysirt. Das Präparat enthielt 57.9 bis 58.6 Proc. C, 5.8 bis 5.9 Proc. H und 13.76 Proc. N.

Dieses Darstellungsverfahren liefert, wie ich mich überzeugte, ein Präparat, das keineswegs von Eiweissstoffen frei ist. Ich habe daher die Untersuchung des Chorioideafarbstoffs von Neuem aufgenommen. Die für eine Untersuchung nöthigen, im Schlachthof in Alkohol gesammelten Rinderaugen, etwa 100 Stück, wurden im sagittalen Durchmesser durchschnitten, die Chorioidea sammt Iris von der Retina und Sclera abpräparirt und in Alkohol aufgehoben, bis alle Augen in der Weise präparirt waren. Das Pigment wurde unter Wasser mit einer kurz geschnittenen harten Federfahne abgepinselt und auf ein feines Leinwandfilter gebracht, auf

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. 40, 1841.

welchem der grösste Theil der Gewebspartikelchen zurückblieb. Nach ein- bis zweitägigem Stehen setzte sich der Farbstoff in der Flüssigkeit zu Boden, so dass sie ohne Verlust abgegossen werden konnte. Der Bodensatz wurde jetzt mit 10proc. Salzsäure etwa zwei Stunden lang am Rückflusskühler gekocht, um das beigemengte Eiweiss in lösliches Pepton zu verwandeln, hierauf filtrirt, ausgewaschen und jetzt so lange im Extractionsapparate mit Alkohol, hernach mit Aether behandelt, bis von den beiden Flüssigkeiten nichts mehr gelöst wurde. Das so erhaltene Chorioideapigment ist ein schwarzes amorphes Pulver, unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform und Schwefelkohlenstoff, sehr wenig löslich in Alkalien und concentrirten Mineralsäuren. Die Lösungen zeigen im Spectrum keinen Absorptionsstreifen. Von Salpetersäure wird es leicht zu einem amorphen gelbrothen Product oxydirt, das aus der salpetersauren Lösung durch Wasserzusatz gefällt wird. Das Chorioideapigment enthält weder Eisen noch Schwefel. 0.299 g des trockenen Pigments, mit Kali und Salpeter oxydirt, gaben nach dem Auflösen der Schmelze in HCl und Zusatz von $BaCl_2$ nach 24stündigem Stehen keine Trübung. Die Elementaranalysen des bei 100° getrockneten Productes ergaben mir folgende Zahlen:

0.2464 g, entsprechend 0.2411 g aschefreier Substanz, in offenem Rohre verbrannt, gaben 0.5334 g $CO_2$, 0.1091 g $H_2O$ und 0.0053 g Asche, hauptsächlich aus Kieselsäure bestehend, oder 60.34 Proc. C und 5.02 Proc. H. Der Aschegehalt war = 2.15 Proc.

0.2027 g desselben Präparates aschefrei gaben 19.8 ccm N-Gas bei 719 mm Bst. und 15° oder 10.81 Proc. N.

0.2137 g der Substanz, von einer anderen Darstellung herrührend, in offenem Rohre verbrannt, gaben 0.4527 g $CO_2$, 0.0856 g $H_2O$ und 0.0076 g Asche, oder auf Procente aschefrei berechnet 59.9 Proc. C und 4.61 Proc. H.

Die Zahlen stimmen ziemlich unter einander, aber nicht mit den von Scherer erhaltenen überein. Seine Analysen ergaben einen höheren Stickstoff- und Wasserstoff-, dagegen einen niedrigeren Kohlenstoffgehalt. Der Grund hiervon liegt jedenfalls darin, dass sein Präparat noch beigemengtes Eiweiss enthielt. Untersucht man mikroskopisch den mit Alkohol und Aether extrahirten Farbstoff, so sind neben den Pigmentkörnern kleine Eiweisspartikelchen nicht schwer zu erkennen. Beim Kochen mit Salzsäure geht das Eiweiss in Lösung und kann in dem salzsauren Filtrate mittelst der Biuretreaction leicht nachgewiesen werden.

Es war noch zu untersuchen, ob das Chorioideapigment anderer Thiere mit dem aus Ochsenaugen identisch ist. Zu dem Zwecke wurden grössere Mengen Schweinsaugen gesammelt und das Pigment nach dem gleichen Verfahren isolirt. Aus 120 Augen erhielt ich 0.25 g des gereinigten Productes, das in seinen Eigenschaften ganz dem Pigment aus Rinderaugen gleich war. Qualitativ wurde darin die Abwesenheit von Schwefel constatirt. Eine Kohlenwasserstoffbestimmung mit dem Rest des Präparates ergab folgende Zahlen:

0.1829 g der bei 110° getrockneten Substanz in offenem Rohre verbrannt gaben 0.3794 g $CO_2$, 0.0809 g $H_2O$ und 0.0064 g Asche, oder auf Procente aschefrei berechnet: 58.64 Proc. C und 5.09 Proc. H.

Ernstliche Versuche, das Pigment der Haare oder der Haut zu isoliren, sind bis jetzt nicht gemacht worden [1]). Nach einigen Orientirungsversuchen, um die Eigenschaften des Farbstoffs, seine Löslichkeitsverhältnisse u. s. w. kennen zu lernen, wurde folgendes Verfahren eingeschlagen:

Menschliche Haare, mit dem zehnfachen Gewichte 5 proc. Kali- oder Natronlauge in der Wärme auf dem Wasserbade digerirt, lösen sich allmählich darin vollständig auf. Beim Ansäuern der filtrirten Lösung entweicht viel Schwefelwasserstoff und fällt nach hinreichendem Säurezusatz ausser einer klebrigen Proteïnsubstanz und Schwefel auch der grösste Theil des Farbstoffs nieder. Es wurden daher in einem Versuche 80 g schwarze Haare, von einer einzigen Person herrührend, in einem Extractionsapparate mit Alkohol, sodann mit Aetherdämpfen behandelt, um die darin löslichen Stoffe zu entfernen. Nachdem durch Liegen an der Luft der Aether verdunstet war, wurden sie mit 2 proc. Sodalösung und sodann mit Wasser ausgekocht. Jetzt wurden die abgepressten Haare mit dem zehnfachen Gewichte 5 proc. Kalilauge so lange auf dem Wasserbade digerirt, bis alles sich gelöst hatte, was etwa nach einer Stunde erfolgte. Aus der filtrirten alkalischen Lösung werden durch Essigsäure im Ueberschuss die oben bezeichneten Stoffe gefällt. Nach dem Absetzen wird filtrirt und der Niederschlag, um den Schwefel zu entfernen, wiederholt in verdünntem Ammoniak gelöst und mit Salzsäure gefällt. Hierauf wurde er mit etwa dem 20 fachen Gewichte 5 proc. Salzsäure mehrere Stunden am Rückflusskühler gekocht, filtrirt und der Filterrückstand mit Schwefelkohlenstoff, Aether und Alkohol extrahirt. Schliesslich wurde das so erhaltene Product noch einmal in verdünntem Ammoniak gelöst, filtrirt, mit Salzsäure ausgefällt, ausgewaschen und bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknet. Das so erhaltene Product ist ein schwarzbraunes amorphes Pulver, leicht löslich in Alkalien, unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform und Schwefelkohlenstoff. Die alkalischen Lösungen zeigen keinen Absorptionsstreifen. Das Product enthielt keine wägbare Asche, ist also eisenfrei; dagegen ist es schwefelhaltig. Seine Elementaranalysen lieferten mir folgende Zahlen: 0.2239 g mit chromsaurem Blei im offenen Rohre verbrannt gaben 0.4695 g $CO_2$, 0.1406 g $H_2O$ und keine wägbare Asche. Gefunden in Procenten: 57.19 Proc. C und 6.97 Proc. H.

0.3276 g des gleichen Präparates, mit Kali und Salpeter oxydirt, gaben 0.0643 g $SO_4Ba$ oder 2.71 Proc. S.

Für weitere Analysen reichte das vorhandene Material nicht aus, da ich aus 80 g Haaren nur gegen 0.8 g des Farbstoffs erhielt. Ich habe daher neues Material darstellen müssen. Da aber von dem gleichen Individuum nicht hinreichend Haare zu beschaffen waren, so wurden Haarzöpfe beim Friseur gekauft und zusammen verarbeitet. Die Haare waren nicht gleich, grösstentheils schwarz, mit braun vermischt. Der auf gleiche Weise dargestellte Farbstoff hatte auch die gleichen Eigenschaften. Das Präparat enthielt nur wenig Asche, 0.88 Proc., und ergab bei den Elementaranalysen folgende Zahlen:

[1]) Man vergleiche für die ältere Literatur: Robin et Verdeuil, Traité de Chimie anatomique. Paris 1853, **3**, 392; sodann Maly's Jahresberichte über die Fortschritte der Thierchemie.

0.2036 g oder 0.2018 g aschefreier Substanz gaben 0.4154 g $CO_2$ und 0.1376 g $H_2O$ oder 56.14 Proc. C und 7.57 Proc. H.

0.1881 g oder 0.1865 g aschefrei gaben 15.2 ccm N-Gas bei 714 mm Bst. und 25.5°, entsprechend 8.5 Proc. N.

0.3246 g = 0.3218 g aschefreier Substanz gaben, mit Kali und Salpeter oxydirt, 0.0961 g $SO_4Ba$ oder 4.10 Proc. S.

Die für Kohlenstoff und Wasserstoff erhaltenen Zahlen sind von der Analyse des ersten Präparates nicht sehr abweichend. Dagegen ist der Schwefelgehalt bedeutend höher gefunden worden. Bekanntlich ist der Schwefelgehalt verschiedenfarbiger Haare sehr wechselnd. Rothe Haare sind die schwefelreichsten. Ob hierin der Grund für den verschieden gefundenen Gehalt an Schwefel zu suchen ist, müssen erst weitere Forschungen entscheiden. Ueberhaupt sind unsere chemischen Kenntnisse der menschlichen und der thierischen Haare sehr dürftig. Wir haben hierüber im grösseren Maassstabe Untersuchungen unternommen und hoffen, auch über die Zusammensetzung der Haarfarbstoffe zu präciseren Kenntnissen zu gelangen.

Nach den Angaben der Anatomen wird das Haarpigment in der Haut gebildet und gelangt von dort in die Haarzellen. Einer hierauf bezüglichen Publication von Dr. Gustav Riehl[1]) entnehme ich Folgendes: „Die Untersuchung der Haare ergiebt nach den übereinstimmenden Angaben aller neueren Beobachter, dass das Pigment zuerst in den Matrixzellen der Haarrinde auftritt, so dass der Ausdehnung dieser Fusszellen entsprechend die pigmentführende Schicht die obere Hälfte der Papille einnimmt und die letztere bis nahe an den Papillenhals bedeckt . . . . . . Aus den Fusszellen der Haarrinde gelangt das Pigment beim Wachsen der Haare allmählich in die oberen verhornenden und langgestreckten Zellen der Haarrinde . . . . . . S. 38: Untersucht man Hautstücke mit im vollen Wachsthum begriffenen pigmentirten Haaren oder im Haarwechsel begriffene Stellen brünetter Individuen, so findet man nicht selten in den Papillen der Haare und Haaranlagen zahlreiche Pigmentzellen und kann solche, dem Laufe der Gefässe folgend, auch im tieferen Gefässstratum der Cutis nachweisen. Es wird dadurch wahrscheinlich, dass diese pigmentführenden Wanderzellen von der Umgebung der Gefässe ihren Ausgangspunkt nehmen und von dort in das Gewebe der Haarpapillen und in das Haar selbst einwandern."

Es wäre jedoch voreilig, behaupten zu wollen, dass das Pigment der Haut mit dem der Haare identisch sei. Die Möglichkeit ist nicht ausgeschlossen, dass der Farbstoff, bevor er zu den Zellen der Haarrinde gelangt, auch selbst chemische Veränderungen erleidet. Sicher hat der Haarfarbstoff mit dem Blutfarbstoff — dem Hämatin — nichts Gemeinschaftliches, kann deshalb nicht von ihm abstammen und dementsprechend werden die Anatomen und Dermatologen ihre Ansicht, betreffend die Provenienz des Hautfarbstoffs, modificiren müssen. Wenn z. B. im gleichen Hefte der oben citirten Zeitschrift (l. c., S. 16) Prof. J. Pick als Beweis für diese nicht mehr haltbare Ansicht mittheilt, dass die Pigmentablagerung im Rete gerade nur über den erweiterten und strotzend mit Blut gefüllten Gefässen stattfindet, so kann

[1]) Vierteljahrsschr. f. Dermatologie und Syphilis. Prag 1884. 11. Jahrg., S. 34.

das z. B. als Beweis dafür dienen, dass bei der Entstehung des Hautpigmentes eine lebhaftere Oxydation vor sich geht, wobei der Sauerstoff des Hämoglobins mit betheiligt ist und deshalb die Pigmentbildung in der nächsten Umgebung der Blutgefässe stattfindet. Es ist ein bequemer, aber auch naiver Standpunkt, jedes schwarze oder braune Pigment im Organismus vom Blutfarbstoff ableiten zu wollen. Darüber, ob ein Pigment vom Blutfarbstoff abstamme, kann mit absoluter Sicherheit weder der anatomische Befund noch mikrochemische Reactionen, sondern einzig und allein die chemische Analyse entscheiden. Das Pigment der schwarzen Haare ist von dem von Berdez und Nencki entdeckten Phymatorhusin verschieden. Es ist aber höchst wahrscheinlich, dass beide in naher genetischer Beziehung zu einander stehen. Dafür spricht die Löslichkeit in Alkalien und vor Allem der Schwefelgehalt beider Substanzen. Die primäre Geschwulst in dem Falle von Nencki und Berdez ist von einem Muttermal ausgegangen und das Haar des Patienten war braun. Es ist aber ebenso möglich, dass, wenn Melanosarkome primär am Auge entstehen, das Pigment der primären und der metastatischen Tumoren, ähnlich wie das der Chorioidea, schwefelfrei sein wird.

Nachschrift. Während des Druckes der vorliegenden Mittheilung habe ich den schwarzen Farbstoff aus den Haaren des Rossschweifes dargestellt und analysirt. Seine procentische Zusammensetzung war folgende: C 57.6, H 4.2, N 11.6, S 2.1 und O 24.5. Diese Zahlen stehen ziemlich nahe der procentischen Zusammensetzung des Hippomelanins. Noch besser entsprechen sie aber der Zusammensetzung der inzwischen ebenfalls analysirten Hippomelaninsäure. Mit der letzteren Säure hat der schwarze Farbstoff der Rosshaare, auch bezüglich der übrigen Eigenschaften, die grösste Aehnlichkeit, so dass, wenn auch die Identität der beiden Farbstoffe noch nicht erwiesen ist, ihre genetische Beziehung ausser allem Zweifel steht.

Bern, im August 1885.

---

# Ueber die Spaltung der Säureester der Fettreihe und der aromatischen Verbindungen im Organismus und durch das Pankreas

von

**M. Nencki.**

Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 20, 367.

Die in Nachfolgendem zu beschreibenden Versuche sind in der Absicht, die fettzerlegende Wirkung des Pankreas genauer kennen zu lernen, ausgeführt worden. Sie wurden in meinem Laboratorium und auf meine Veranlassung von Herrn Ernst Blank unternommen, und als derselbe an ihrer Vollendung verhindert wurde, von Fräulein Anna Panoff fortgesetzt. Das Studium der Fettzerlegung im Darme, sagt Maly[1]) in seiner vor einigen Jahren erschienenen „Chemie der Verdauungs-

[1]) Hermann's Handbuch der Physiologie 5, II. Thl., 198.

säfte und der Verdauung", ist erst in dem Anfangsstadium. Gegen den bekannten und viel citirten Versuch von Berthelot[1]), wo er einige Decigramme des synthetisch von ihm dargestellten Monobutyrins 24 Stunden lang bei der Bruttemperatur mit 20 g des Pankreassecretes digerirte und danach eine fast vollständige Spaltung des Glycerids in Buttersäure und Glycerin eintreten sah, bemerkt Maly, dass die natürlichen Fette nicht Mono-, sondern Triglyceride sind, und dann habe Berthelot selbst die Zersetzbarkeit seiner künstlichen Glyceride, zumal der Valerine und der im höchsten Grade veränderlichen Butyrine, constatirt; durch blosses Stehen im lose bedeckten Glase trete, ohne dass merkliche Quantitäten Sauerstoff gebunden würden, freie Säure auf. Neue Untersuchungen über die Fettzerlegung durch das Pankreasenzym seien daher sehr wünschenswerth. Ob auch Alkylester, wie z. B. Essigester, durch das Enzym in Alkohol und Säure zerlegt werden, sei durch die dürftigen Versuche von Heritsch[2]) nicht entschieden worden und andere liegen nicht vor.

Seit diesen Bemerkungen Maly's sind die interessanten Untersuchungen von J. Munk[3]) über die Resorption der Fette und der Fettsäuren erschienen. Auch bezüglich des Antheiles der Galle an diesem Processe sind unsere Kenntnisse durch die Arbeiten Voit's[4]) wesentlich bereichert worden. Beide Arbeiten aber beschäftigen sich weniger mit der Zerlegung der Fette durch das Pankreasenzym, als vielmehr mit der Fettresorptionsfrage. Im Interesse genauerer Kenntniss der Veränderungen der Fette im Darmcanal erscheint es mir wünschenswerth, dass diese beiden Fragen zunächst besonders behandelt werden. Nach einem älteren Versuche von Schiff[5]) wird Nahrungsfett von Hunden auch bei gänzlicher Zerstörung des Pankreas vollständig resorbirt. Schiff injicirte Hunden 16 bis 27 ccm geschmolzenes Paraffin in den Hauptausführungsgang der Drüse. Manchmal stellte dann das Pankreas in seiner ganzen Ausdehnung eine feste Masse dar, während die morphologischen Drüsenelemente mit der Zeit mehr oder weniger degenerirten. Mitunter frassen die Thiere schon drei Tage nach der Operation. Schiff giebt nun an, dass solche Thiere, welche täglich in ihrem Futter schon 120 bis 150 g Fett bekamen, in ihrem Koth nur Spuren unresorbirten Fettes ausscheiden.

Ein weiteres, bei den Untersuchungen über die Fettspaltung durch das Pankreas besonders zu berücksichtigendes Moment sind die Spaltpilze. Der Speisebrei wird im Darmcanal nicht allein durch die Secrete der Verdauungsdrüsen, sondern auch durch die Spaltpilze zerlegt. In unseren Untersuchungen wurde daher auch auf diesen Umstand Rücksicht genommen und bei den Versuchen mit Pankreas einerseits jede Fäulniss ausgeschlossen, andererseits die gleichen Versuche unter Mitwirkung der Fäulnissbacterien wiederholt, um so den Antheil der letzteren an der Zersetzung der betreffenden Substanzen zu ermitteln.

Herr Blank hat zunächst zu ermitteln gesucht, wie viel von dem einverleibten

---

[1]) Annales de Chimie etc. **41**, 272, 1854.

[2]) Maly's Jahresbericht für 1875, S. 179.

[3]) Virchow's Archiv **80**, 10 und Verhandlungen der physiolog. Gesellschaft zu Berlin. 1882—1883. Nr. 10.

[4]) Maly's Jahresbericht für 1882, S. 297.

[5]) Ibid. S. 222.

Fett in Säure und Glycerin im Organismus zerlegt werden kann, und da die gewöhnlichen Nahrungsfette im Organismus theils verbrannt, theils angesetzt werden, wodurch eine quantitative Bestimmung nicht gut möglich ist, so hat er seine Versuche mit einem Glycerid, dessen Säurecomponent im Organismus nicht weiter oxydirt wird, nämlich dem Tribenzoicin $= C_3H_5O_3(C_7H_5O)_3$, angestellt. Dieser Ester, nach der allgemeinen Formel der Fette zusammengesetzt, eignete sich vermöge seiner Eigenschaften für unsere Zwecke am besten. Er ist unlöslich in Wasser, leicht löslich in Aether und heissem Alkohol, wird durch Aetzalkalien in benzoësaures Salz und Glycerin zerlegt, schmilzt bei 73°, zersetzt sich unter Bildung von Acroleïn beim Erhitzen, reagirt neutral und lässt sich, rein dargestellt, monatelang ohne jede Zersetzung aufbewahren. Das Tribenzoicin wurde von Berthelot[1]) gelegentlich seiner Untersuchungen über die Synthese der Fette dargestellt und zwar so, dass zuerst durch zweitägiges Erhitzen von Benzoësäure mit überschüssigem Glycerin im zugeschmolzenen Rohr auf 275° das Monobenzoicin bereitet und erst aus diesem durch tagelanges Erhitzen mit dem 15 fachen Gewichte Benzoësäure im zugeschmolzenen Rohr auf 250°, das Tribenzoicin erhalten wurde. Es schien uns nun wahrscheinlich, da die Benzoësäure erst bei 249° und das Glycerin bei 290° siedet, dass die Darstellung der Benzoësäureglyceride auch durch Erhitzen der beiden Componenten in offenen Gefässen ausführbar sein müsse. Angestellte Versuche bestätigten diese Erwartung in sehr befriedigender Weise, so dass das Fett in kurzer Zeit nach folgendem Verfahren kilogrammweise bereitet werden kann.

Zunächst wird ein Gemenge von Mono- und Dibenzoicin dargestellt. 40 Gewichtsthle. Benzoësäure werden mit 9 Gewichtstln. des käuflichen, wasserfreien Glycerins in einem Kolben auf dem Sandbade erhitzt. Der Kolben ist mit einem doppelt durchbohrten Korke verschlossen. Durch die eine Bohrung ist ein Thermometer in die Schmelze eingesenkt, in der zweiten befindet sich ein kurzes, offenes, nach oben verjüngtes Glasröhrchen, durch welches die bei der Reaction gebildeten Wasserdämpfe entweichen können. Bei 150° beginnt die geschmolzene Masse lebhaft zu reagiren, die Temperatur steigt langsam auf 190°, wo sie sich längere Zeit stationär erhält. Nach etwa dreistündigem Erhitzen, wo die Temperatur bis auf 220° gestiegen ist, kann die Einwirkung als zum grössten Theil vollendet angesehen werden, da nur noch spärliche Bläschen von gebildetem Wasser entweichen. Nach dem Erkalten wird die Schmelze mit etwas Wasser versetzt und mit Aether ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung, die von unveränderter Benzoësäure sauer reagirt, wird mit Sodalösung geschüttelt, filtrirt, nach der Trennung der Schichten die ätherische Lösung abgehoben und der Aether abdestillirt. Ein Theil des so erhaltenen hellbraunen, syrupdicken Rückstandes wurde über concentrirter Schwefelsäure bis zu constantem Gewichte getrocknet und analysirt. Die Elementaranalysen des Productes ergaben Zahlen, wie sie einem Gemenge von Mono- und Dibenzoicin etwa zu gleichen Theilen entsprechen. Für 9 Gewichtsthle. des Glycerins erhielten wir 14 Gewichtsthle. dieses Gemenges. Das Tribenzoicin wird daraus auf folgende Weise bereitet: 8 Gewichtsthle. des Gemenges von Mono- und Dibenzoicin

[1]) Annales de Chimie **41**, 293, 1854.

werden mit 10 Gewichtsthln. Benzoësäure in einem wie oben verschlossenen Kolben auf dem Sandbade erhitzt. Die Reaction ist nach dreistündigem Erhitzen, wobei die Temperatur allmählich bis auf 240° gestiegen, vollendet. Nach dem Erkalten wird die krystallinisch erstarrte braune Masse in Aether gelöst und mit Sodalösung bis zur Neutralisation geschüttelt, wobei sich braune verunreinigende Producte abscheiden. Nach dem Abdestilliren des Aethers und Erkalten hinterbleibt das Tribenzoicin als eine krystallinische, röthlich gefärbte Fettscheibe, die, aus heissem Alkohol umkrystallisirt, schneeweisse, der Hippursäure ähnliche Nadeln und Prismen liefert. Aus 8 Gewichtsthln. des Gemenges erhält man etwa 12 Gewichtsthle. Tribenzoicin. Die Elementaranalyse dieses reinen und bei allen späteren Versuchen angewandten Fettes ergab folgende Zahlen:

0.268 g der über $SO_4H_2$ getrockneten Substanz gaben 0.6994 g $CO_2$ und 0.1224 g $H_2O$ oder 71.1 Proc. C und 5.1 Proc. H. Die Formel $C_3H_5O_3(C_7H_5O)_3$ verlangt 71.2 Proc. C und 4.95 Proc. H.

Wir haben nicht versucht, ob durch Erhitzen von Palmitinsäure oder Stearinsäure mit Glycerin in offenem Kolben das Tripalmitin oder Tristearin erhältlich sei, doch ist dies nach der Analogie mit Tribenzoicin sehr unwahrscheinlich.

Zu den nun folgenden Versuchen benutzte Herr Blank einen 11 kg schweren, zu regelmässigem Harnlassen abgerichteten Hund, der auf ausschliessliche Fleischnahrung gestellt war und täglich 500 g rohes Pferdefleisch erhielt. Sein Harn reagirte normaler Weise schwach alkalisch oder neutral und enthielt nur Spuren von Hippursäure.

Versuch 1. Der Hund erhält 5 g Tribenzoicin in Fleisch eingewickelt. Der in den darauf folgenden 24 Stunden gelassene Harn war stark sauer. Er wurde mit Kalkmilch versetzt und auf dem Wasserbade bis fast zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit Alkohol extrahirt und das alkoholische Filtrat auf dem Wasserbade bis zur Verjagung allen Alkohols eingedampft, sodann mit etwas Wasser und nach dem Erkalten mit Salzsäure versetzt. Um die Hippursäure zu extrahiren, hat sich uns eine Mischung von 2 Thln. Aether und 1 Thl. Essigäther als zweckmässig bewährt. Aethyläther nimmt nur wenig Hippursäure auf, so dass relativ grosse Mengen des Lösungsmittels nöthig sind. In Essigäther ist Hippursäure leichter löslich, man hat aber den Nachtheil, dass Essigäther viel Wasser und in Folge dessen beim Ausschütteln auch ansehnliche Quantitäten Salzsäure aufnimmt, welche hernach beim Eindampfen der Aetherauszüge zersetzend auf die Hippursäure einwirkt. Auch Harnstoff und Farbstoffe nimmt der Essigäther leicht auf, was ebenfalls bei der Reindarstellung der Hippursäure störend ist. Die vereinigten ätherischen Lösungen wurden destillirt und der hinterbliebene, nur aus klinorhombischen Prismen bestehende Rückstand über $SO_4H_2$ getrocknet und gewogen. Er wog 4.102 g und entspricht als Hippursäure berechnet 3.08 g zersetzten Tribenzoicins. Es sind also mehr als 60 Proc. des verfütterten Fettes zerlegt und als Hippursäure ausgeschieden worden. Dass die Krystalle nur Hippursäure waren, hat uns eine Stickstoffbestimmung gezeigt. Durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser unter Zusatz von Thierkohle wurden sie gereinigt und ergaben folgende Zahlen:

0.2361 g der Substanz gaben 17.3 ccm N-Gas bei 19° und 705 mm Bst. oder 0.018408 g = 7.8 Proc. N. Hippursäure enthält 7.82 Proc. N.

Der Versuch wurde vollkommen ceteris paribus wiederholt. Diesmal wurden aus dem Harn 2.9 g Hippursäure neben 0.51 g Benzoësäure erhalten. Es entspricht dies 2.73 g des zersetzten Triglycerides oder 54.6 Proc.

Bei den kleinen Dosen hätte man erwarten können, dass im Darmcanal alles Tribenzoicin gespalten werde. Der Versuch zeigte, dass dem nicht so ist. Der Grund hiervon liegt wahrscheinlich darin, dass Tribenzoicin ziemlich hoch — bei 73° — schmilzt. J. König[1]) fand, dass flüssiges Fett viel mehr als festes resorbirt wird. Er fütterte Kaninchen mit Bienenwachs, Palmwachs, Olivenöl + Bienenwachs und reinem Olivenöl. Von den mit der übrigen Nahrung verfütterten Fetten wurden resorbirt von Bienenwachs 31.5 Proc., von Palmwachs 71.3 Proc., vom Olivenöl + Bienenwachs 75.5 Proc. und von Olivenöl 93.42 Proc. Schmiedeberg[2]) hat übrigens gezeigt, dass nach dem Eingeben von Benzoësäureglycerid freie Benzoësäure in die Fäces übergeht. Die gleiche Dose Tribenzoicins wird aber vom Menschen vollständig resorbirt und als Hippursäure ausgeschieden. Herr Blank nahm selbst 5 g Tribenzoicin ein. Die darauf gelassene 15 stündige Harnmenge = 1125 ccm wurde auf Hippursäure verarbeitet. Er erhielt 97 Proc. Hippursäure von der dem eingenommenen Benzoicin entsprechenden Menge. Der Versuch, zu ermitteln, wie viel von dem flüssigen Gemenge des Mono- und Dibenzoicins als Hippursäure ausgeschieden wird, fiel insofern ungünstig aus, als der Hund das Präparat nicht vertragen konnte und wiederholt darauf erbrochen hatte.

Nachdem so die Zerlegung des Tribenzoicins im Organismus festgestellt wurde, war die Frage zu untersuchen, ob diese Spaltung schon im Darme unter dem Einflusse des Pankreasenzyms oder der Fäulniss, oder vielleicht erst in den Geweben durch ein anderes Enzym, z. B. das von Schmiedeberg aus der Schweinsniere isolirte Histozym, erfolge. Zu dem Zwecke wurden folgende Versuche angestellt:

Versuch 1. Ein frisches, klein zerhacktes Ochsenpankreas von 250 g Gewicht wurde mit 250 ccm einer wässerigen 1/2 proc. Phenollösung übergossen, mit 10 g Tribenzoicin versetzt und in einem mit Watte lose verschlossenen Kolben bei der Bruttemperatur stehen gelassen. Der Kolbeninhalt wurde öfters umgerührt. Nach 24 Stunden reagirte das Gemisch stark sauer. Mit Soda neutralisirt veränderte die Flüssigkeit ihre Reaction in den folgenden 48 Stunden nicht mehr. Fäulnissorganismen konnten während der Zeit bei der mikroskopischen Untersuchung nicht nachgewiesen werden. Die Verarbeitung geschah in folgender Weise: Erst wurde der Brei mit Wasser angerührt, sodann durch Leinwand colirt und so gut als möglich ausgepresst. Das trübe Filtrat wurde behufs der Coagulation des Eiweisses und Entfernung des Fettes mit etwas Essigsäure angesäuert, zum Sieden erhitzt und filtrirt. Das jetzt erhaltene klare Filtrat wurde genau neutralisirt, auf dem Wasserbade eingeengt, dann mit Salzsäure die Benzoësäure abgeschieden und mit Aether ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung hinterliess nach dem Verdunsten des Aethers und Trocknen 5.436 g Benzoësäure, entsprechend 5.96 g Tribenzoicin. Es waren also mindestens 60 Proc. des zugesetzten Glycerids zersetzt, denn die Menge der er-

[1]) Jahresbericht über die Fortschritte der Agriculturchemie für das Jahr 1877. S. 405.
[2]) Grundriss der Arzneimittellehre. S. 251.

haltenen Benzoësäure wäre jedenfalls noch grösser gewesen, wenn das Coliren und Abpressen nicht unvermeidliche Verluste veranlasst hätte. Jedenfalls war aber nicht alles Tribenzoicin zerlegt und Herr Blank wiederholte den Versuch mit dem Unterschiede, dass er der Flüssigkeit Ochsengalle zusetzte, indem er von der Voraussetzung ausging, dass die durch die Galle bewirkte Emulsion der Verdauungsflüssigkeit für die vollkommene Fettspaltung von wesentlichem Vortheile sei. Der Versuch rechtfertigte auch diese Voraussetzung.

Versuch 2. 120 g klein zerhacktes Ochsenpankreas wurden mit 360 ccm $^1/_2$ proc. Phenollösung und 50 ccm Ochsengalle übergossen und nach Zusatz von 5 g Tribenzoicin bei der Bruttemperatur aufgestellt. Nach 12 Stunden war die Flüssigkeit stark sauer und brauchte zur Neutralisation 25 ccm Normalalkali (56 g KHO im Liter). Nach 36 Stunden war die Reaction wieder sauer und brauchte 12 ccm Normalalkali. Nach 48 Stunden wurde noch etwas Säure gebildet, welche 2 ccm der Normallösung erforderte. Bei den mikroskopischen Untersuchungen hatten sich während der ganzen Zeit keine Fäulnissorganismen gezeigt. Unter Zusatz einiger Tropfen Essigsäure wurde nun die Mischung zum Sieden erhitzt und heiss filtrirt, aus dem eingeengten Filtrate der Benzoësäure mit etwas Salzsäure abgeschieden und mit Aether ausgezogen. Dieser wurde abdestillirt, der über $SO_4H_2$ getrocknete Rückstand in Alkohol aufgenommen und unter Zusatz eines Tropfens Cyaninlösung mit Normalalkali titrirt. Zur vollständigen Sättigung der Säure waren 36.2 ccm der Normallösung nöthig, welche 4.416 g Benzoësäure oder 4.857 g Benzoicin entsprechen. Mit Rücksicht auf unvermeidliche Verluste kann die Spaltung in diesem Versuche eine vollständige genannt werden.

In einer folgenden Versuchsreihe untersuchte Herr Blank die Einwirkung von Pankreas und Galle auf die natürlichen Fette und verwendete dazu frisch ausgelassenes Hammelfett, das in alkoholischer Lösung vollkommen neutral reagirte und wasserfrei war. In einer ersten Serie wurde in einem frischen, klein zerhackten Ochsenpankreas der Fettgehalt bestimmt und = 6.1 Proc. gefunden, und gleichzeitig je 50 g davon a) mit 5 g Hammelfett und 100 ccm $^1/_2$ proc. Phenollösung, b) mit 5 g Hammelfett, 50 ccm $^1/_2$ proc. Phenollösung und 50 ccm Ochsengalle 24 Stunden lang bei Bruttemperatur stehen gelassen. Um gleichzeitig den Einfluss der Fäulnissorganismen auf die Spaltung der Fette kennen zu lernen, wurden c) 50 g der gleichen Drüse mit 100 ccm Wasser und 5 g Hammelfett während 24 Stunden bei der nämlichen Temperatur stehen gelassen. Während dieser Zeit ergaben die mikroskopischen Untersuchungen in den mit Phenol versetzten Proben vollständige Abwesenheit von Mikroorganismen. Die Probe ohne Phenol wimmelte dagegen von Spaltpilzen und roch intensiv faulig. Die Verarbeitung dieser drei Proben geschah in folgender Weise. Nachdem die freie Säure mit Kali neutralisirt, wurde das unzersetzte Fett durch mehrmaliges Ausschütteln mit Ligroin vollständig entfernt, darauf mit etwas Salzsäure aus den Seifen die Fettsäuren in Freiheit gesetzt und ebenfalls mit Petroläther aufgenommen. Nach dem Abdestilliren des Ligroins wurden die Rückstände beider Auszüge bei 115° getrocknet und gewogen. Um eine Controle zu haben, wurde der Versuch mit einer anderen Pankreasdrüse, deren Fettgehalt 3.4 Proc. betrug, wiederholt. Die Aufstellung der Proben geschah unter

ganz gleichen Verhältnissen, in der Verarbeitung liessen wir aber eine Aenderung eintreten, indem das saure Gemisch, ohne vorher zu neutralisiren, mit Ligroin ausgezogen und nach dem Abdestilliren und Trocknen der Rückstand von unzerlegtem Fett und freien Fettsäuren zusammen gewogen wurde. Sodann wurde dieser Rückstand in Alkohol gelöst und durch Titriren mit Normalalkali die Menge der vorhandenen freien Säure ermittelt. Die Resultate der beiden Versuchsreihen sind aus folgender Zusammenstellung ersichtlich:

I. Reihe. Gesammtfettgehalt des Gemisches = 8 g.

| | Unzerlegtes Fett | Fett-säuren | Zerlegtes Fett aus den gefundenen Fettsäuren berechnet[2]) |
|---|---|---|---|
| a) Pankreas + Phenollösung . . . . . . | 5.934 | 1.480 | 1.55 = 20.7 Proc. |
| b) Pankreas + Galle +. Phenollösung . | 2.770 | 4.406[1]) | 4.61 = 62.5 „ |
| c) Pankreas ohne Phenol und Galle . . | 6.318 | 1.347 | 1.43 = 18.4 „ |

II. Reihe. Gesammtfettgehalt des Gemisches = 6.7 g.

| | Unzerlegtes Fett + Fett-säuren | Fett-säuren | Zerlegtes Fett aus den gefundenen Fettsäuren berechnet |
|---|---|---|---|
| a) Pankreas + Phenol . . . . . . . . . | 6.210 | 1.215 | 1.27 = 20.4 Proc. |
| b) Pankreas + Phenol + Galle . . . . | 6.145 | 2.901 | 3.04 = 49.5 „ |
| c) Pankreas ohne Phenol . . . . . . . | 6.682 | 1.350 | 1.41 = 21.1 „ |

Aus diesen Versuchen geht zunächst hervor, dass die Gegenwart von Spaltpilzen die Fettzerlegung nicht wesentlich beeinflusst. In beiden Versuchen wurden bei Ausschluss der Fäulniss ziemlich die gleichen Mengen Fett zerlegt wie in den Proben, die unzählige Spaltpilze enthielten. Eine zweite, in beiden Versuchen constant wiederkehrende Thatsache ist der begünstigende Einfluss der Galle auf die Fettspaltung. So wurde in dem Versuche mit Tribenzoicin die ganze Menge des zugesetzten Esters und in den Versuchen mit Hammeltalg 2.5- und 3 mal mehr Fett bei Zusatz von Galle in ihre Componenten gespalten.

Die vor wenigen Jahren von F. Röhmann sowie C. Voit publicirten Untersuchungen haben die früheren Angaben über den Antheil der Galle bei der Fettresorption in allem Umfange bestätigt. Während nach Voit im normalen Zustande von 150 bis 200 g verfütterten Fettes fast 99 Proc. resorbirt werden und nur etwa 1 Proc. im Kothe auftritt, so resorbiren Hunde nach Anlegung von Gallenfisteln bis

[1]) Nach Abzug der in der verwendeten Galle zum Voraus bestimmten Gallensäure, welche mit den Fettsäuren ausgezogen wurden.

[2]) Das Fett ist als Gemenge von Tripalmitin, Trioleïn und Tristearin zu gleichen Theilen angenommen.

zu 60 Proc. des verabreichten Fettes nicht; grössere Mengen (über 150 g) werden überhaupt nicht mehr vertragen. Die Galle befördert aber nicht allein die Resorption, sondern sie ist, wie aus unseren Versuchen hervorgeht, ein nicht zu unterschätzender Factor bei der Spaltung der Fette im Darmrohr. Dabei wollen wir besonders hervorheben, dass diese Spaltung unabhängig von dem Alkaligehalte des Speisebreies ist. Die Zerlegung der Fette und, wie weiter unten gezeigt werden soll, auch der aromatischen Ester findet sogar in stark saurer Lösung statt, sie braucht demnach mit der Verseifung nicht parallel zu gehen und es ist nur natürlich, dass im Darminhalt neben Seife stets auch freie Fettsäuren vorgefunden werden.

Obgleich nun durch die vorstehenden Versuche entschieden wurde, dass die Zerlegung der Fette im Darmrohr nicht durch die Spaltpilze, sondern durch das Pankreasenzym erfolge, so war damit die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass auch in den Geweben des Körpers die Fette gespalten werden. Schmiedeberg[1]) hat vor einigen Jahren aus den Schweinsnieren und Hundeleber ein Hippursäure spaltendes Enzym erhalten, das er Histozym nannte. Wir wollten prüfen, wie das Histozym gegenüber dem Tribenzoicin und dem Hammelfett sich verhält und suchten zunächst nach Schmiedeberg's Vorschrift dasselbe darzustellen. Zwei Schweinsnieren wurden klein zerhackt, hierauf 24 Stunden unter Alkohol liegen gelassen, dann mit Wasser ausgezogen und die wässerige Lösung mit absolutem Alkohol gefällt. Der abgeschiedene, eiweissartige Niederschlag wurde auf ein Filter gesammelt und kam ohne vorheriges Trocknen zur Verwendung.

a) 0.126 g Hippursäure wurden mit Soda neutralisirt, die Lösung mit ausgekochtem, destillirtem Wasser auf 15 ccm gebracht, mit einigen Decigramm feuchten Histozyms versetzt und bei Zimmertemperatur in einem mit Watte verschlossenem Reagensgläschen stehen gelassen. Gleichzeitig wurden b) 0.146 g Tribenzoicin mit 15 ccm schwach mit Soda alkalisch gemachtem und ausgekochtem Wasser und annähernd gleicher Menge Histozym vermengt. Nach 48 stündigem Stehen wurden a) und b) auf Benzoësäure untersucht. Die bacterienfreien Lösungen wurden filtrirt, auf dem Wasserbade auf ca. ein Drittel des ursprünglichen Volumens eingedampft, mit einigen Tropfen Salzsäure angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde verdunstet und der Rückstand von a) mit Ligroin ausgezogen, welches nur Benzoësäure löst und Hippursäure zurücklässt. Nach dem Verdunsten des Ligroins konnten 5 mg Benzoësäure gewonnen werden, während der ätherische Auszug von b) keinen wägbaren Rückstand zurückliess.

Da das nach Schmiedeberg bereitete Histozym nur Spuren des wirksamen Fermentes enthalten konnte und inzwischen O. Loew[2]) ein Verfahren veröffentlichte, mittelst welchem man aus Pankreas lösliches und sehr wirksames Enzym erhalten kann, so hat Herr Blank nach Loew's Vorschrift aus vier frischen Schweinsnieren das Histozym zubereiten gesucht. Das erhaltene Präparat, das zum grössten

[1]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **14**, 382.

[2]) Pflüger's Archiv **27**, 203 u. f.

Theil in Wasser löslich war, wurde in Kölbchen einestheils mit 0.486 g Hippursäure als Natronsalz, andererseits mit 5 g Tribenzoicin bei Zimmertemperatur 70 Stunden lang stehen gelassen. Die mikroskopische Untersuchung zeigte nach dieser Zeit keine Bacterien. Beide Proben wurden hierauf in gleicher Weise verarbeitet wie beim vorhergehenden Versuch. Aus der Hippursäurelösung konnten 2 mg, aus der anderen dagegen keine wägbare Menge Benzoësäure erhalten werden.

Im Gegensatz zu diesen negativen Resultaten haben wir gefunden, dass Pankreas, mit Hippursäure digerirt, dieselbe in Benzoësäure und Glycocoll zu spalten vermag. 5 g Hippursäure wurden als Natronsalz mit 50 g klein zerhacktem Pankreas und 100 ccm einer $^1/_2$ proc. Phenollösung bei der Bruttemperatur aufgestellt. Nach 48 stündigem Stehen, während welcher Zeit keine Spaltpilze auftraten, wurde das Gemisch auf Benzoësäure verarbeitet. Es konnten daraus 0.9851 g reiner, aus heissem Wasser umkrystallisirter und bei 121° schmelzender Benzoësäure gewonnen werden. Demnach sind 1.445 g Hippursäure oder 28.9 Proc. der angewandten Menge zerlegt worden. Wie überall, wo das Gemisch nicht colirt wurde, waren auch hier beträchtliche Verluste nicht zu vermeiden. Aber auch das isolirte lösliche Pankreasenzym zerlegt die Hippursäure in ihre Componenten. Einige Decigramme eines von Dr. Grübler in Leipzig als Trypsin bezogenen Präparates wurden in 50 ccm ausgekochten destillirten Wassers suspendirt, mit 0.4 g Hippursäure als Natronsalz versetzt und 36 Stunden lang bei Bruttemperatur stehen gelassen. Fäulniss trat nicht ein; die Verarbeitung lieferte 0.102 g reiner Benzoësäure, entsprechend 0.149 g = 29.8 Proc. der angewandten Hippursäure. Nach Alledem ist es sehr wahrscheinlich, dass das Schmiedeberg'sche Histozym ein pankreatisches Enzym ist. Dass die Verdauungsenzyme in den Harn übergehen, ist schon seit langer Zeit durch die Publicationen von Brücke[1]), Cohnheim[2]) und Béchamp[3]) bekannt. Neuerdings hat P. Grützner[4]) gemeinschaftlich mit seinen Schülern Sahli und Gehrig den Gehalt des Harns an Pepsin und Trypsin bestimmt, woraus hervorgeht, dass derselbe je nach den Tageszeiten, Nahrungsaufnahme u. dergl. mehr sehr wechselnd ist. Dieser Umstand ist vielleicht auch der Grund, weshalb wir in unseren Versuchen aus den Schweinsnieren nur Spuren des Enzyms erhalten haben. — Wird abnormer Weise der Enzymgehalt des Blutes und damit des Harnes erhöht, so kann die Synthese der im Darm abgespaltenen, sowie als solche eingenommenen Benzoësäure zu Hippursäure behindert und eine Spaltung der Hippursäure in der Blase begünstigt werden, so dass im Harn neben Hippursäure auch Benzoësäure auftreten kann.

Nachdem ich so die hydrolytische Wirkung des Pankreas gegenüber den Glycerinestern und der Hippursäure kennen gelernt habe, war es für mich von Interesse, zu untersuchen, wie sich das Pankreas gegenüber dem Säureester der aromatischen

---

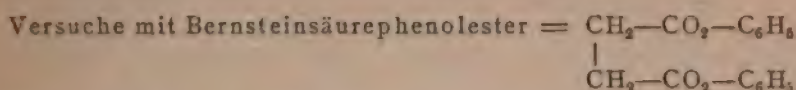
[1]) Wiener Sitzungsberichte **37**, 1861.

[2]) Virchow's Archiv **28**, 241.

[3]) Compt. rend. **60**, 445.

[4]) Ueber den Fermentgehalt des menschlichen Harns. Breslauer ärztliche Zeitschrift vom 9. September 1882; Sahli und Gehrig, Ueber den wechselnden Gehalt des Harns an Pepsin und Trypsin. Berner Doctordissertationen vom Jahre 1885.

Alkohole (der Phenole) verhalten werde. Die hierauf bezüglichen Versuche wurden von Fräulein Anna Panoff ausgeführt. Die Säureester der Phenole können nach einem allgemeinen von mir gefundenen Verfahren leicht dargestellt werden und zwar durch Erwärmen der beiden Componenten mit Phosphoroxychlorid als wasserentziehendes Mittel [1]).

Versuche mit Bernsteinsäurephenolester = $\begin{array}{l} CH_2—CO_2—C_6H_5 \\ \vert \\ CH_2—CO_2—C_6H_5 \end{array}$

Dieser Ester ist schon früher von Weselsky [2]) dargestellt worden. Man erhält ihn leicht durch Erhitzen äquivalenter Mengen von Phenol und Bernsteinsäure mit $POCl_3$ und zweimaliges Umkrystallisiren aus verdünntem heissem Alkohol. Der Schmelzpunkt des zu folgenden Versuchen verwendeten Esters lag, wie ihn Rasiński gefunden, bei 118° C.

Zunächst wurde durch Versuche an Thieren constatirt, dass der Ester $C_4H_4O_4(C_6H_5)_2$ im Organismus in Bernsteinsäure und Phenol zerlegt werde. Von der Bernsteinsäure war zu erwarten, dass sie vollständig oxydirt werde, das Phenol dagegen müsste als Phenolätherschwefelsäure in den Harn übergehen. Ein kräftiges Kaninchen erhielt mittelst Schlundsonde in den Magen 0.75 g des Esters, der mit Wasser fein emulgirt war. Der Harn des Thieres enthielt vor der Eingabe des Esters kein Phenol. Der einige Stunden nach der Injection mittelst Katheter entnommene Harn war stark phenolhaltig. Der innerhalb 24 Stunden gesammelte Harn = 120 ccm wurde nun mit Salzsäure angesäuert und destillirt, bis Brom im Destillate keine Trübung mehr erzeugte. Aus dem Gesammtdestillate wurden 1.565 g Tribromphenol = 0.44 g Phenol erhalten, entsprechend 0.63 g des eingegebenen Succinylesters.

Auch bei einem Hunde, dessen Harn normaler Weise keine bestimmbaren Mengen Phenol enthielt, wurde constatirt, dass nach Eingabe von Succinylphenolester der Harn stark phenolhaltig wurde, doch wurden hier keine quantitativen Bestimmungen gemacht. Da nun das Succinylphenol im Organismus unzweifelhaft in Bernsteinsäure und Phenol zerlegt wird, so haben wir zu ermitteln gesucht, ob auch ausserhalb des Körpers bei Digestion von Pankreas mit dem Ester dasselbe in gleicher Weise zerlegt werde. Da es sich hierbei um Abhaltung jeder Fäulniss handelte, musste zunächst nach einem passenden antiseptischen Mittel, das aber andererseits das fettzerlegende Enzym nicht zerstöre, gesucht werden. Die Anwendung flüchtiger aromatischer Substanzen, wie Phenol, Salicylsäure u. s. w. war mit Rücksicht auf die folgende Verarbeitung, resp. Isolirung der Spaltungsproducte von vornherein ausgeschlossen. Metallsalze, wie z. B. Sublimat, waren unbrauchbar, da sie auch die Enzymwirkung zerstörten. Nach mehrfachen Versuchen hat sich die Anwendung des reinen, concentrirten Glycerins als Antisepticum zweckmässig erwiesen. Die gährungs- und fäulnisshemmende Wirkung des Glycerins ist vor

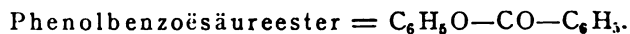
[1]) Vgl. hierüber Journ. prakt. Chem. **25**, 282 u. **26**, 63. — Dieser Band S. 630 u. 678.
[2]) Vgl. Berl. chem. Ber. 1869, S. 519 und Rasiński, Journ. f. prakt. Chem. **26**, 62.

einigen Jahren von J. Munk[1]) untersucht worden. Munk beschreibt einen Versuch, wo ein mit reinem Glycerin bereiteter Extract des Pankreas selbst nach längerer Zeit mässig dicken Stärkekleister nicht in Zucker zu verwandeln vermochte, während derselbe Kleister, mit Speichel versetzt, in einigen Minuten Zuckerreaction gab. Als dann der Stärkekleister verdünnt und die Concentration des Glycerins vermindert wurde, erfolgte in kurzer Zeit auch durch den Extract aus dem Pankreas die Zuckerbildung.

Fräulein Panoff hat bei ihren Versuchen keine Glycerinextracte des Pankreas angewendet, da dieselben unwirksam waren. Vermischt man aber innig frisch aus dem Schlachthause geholtes und klein zerhacktes Ochsenpankreas mit dem halben Gewichte reinen Glycerins (specifisches Gewicht 1.27) und setzt ein Fett oder einen aromatischen Ester hinzu, so wird bei Bruttemperatur in kurzer Zeit ein Theil des Fettes resp. Esters zersetzt und die Masse nimmt stark saure Reaction an. Auch Stärkekleister wird durch ein solches Gemenge in kurzer Zeit verzuckert. Concentrirtes Glycerin hemmt also die Enzymwirkung des Pankreas nicht, wohl aber wirkt es antiseptisch und es treten in solchen Gemischen keine Spaltpilze auf. Erst als auf drei Theile des Pankreas ein Theil concentrirtes Glycerin angewendet wurde, enthielt das bei Bruttemperatur gehaltene Gemenge nach 24 Stunden vereinzelte Bacterien.

Das Resultat der Einwirkung des Pankreas auf Phenolbernsteinsäureester war folgendes:

160 g klein zerhacktes Ochsenpankreas wurden mit 80 g Glycerin und 2 g des Esters innig vermischt und in einem lose verschlossenen Kolben bei Bruttemperatur drei Tage lang stehen gelassen. Während der ganzen Zeit war die Reaction der Masse stark sauer, sie selbst geruchlos und die mikroskopische Untersuchung ergab stets bezüglich der Spaltpilze ein negatives Resultat. Am vierten Tage wurde das Verdauungsgemisch mit viel Wasser verdünnt, sodann mit 5 g Weinsäure angesäuert und destillirt, bis die Bromreaction im Destillate nur ganz schwach wurde. Hierauf wurde aus einem Theil des Destillates das Phenol als Tribromphenol gefällt, der Niederschlag getrocknet, gewogen und daraus die Gesammtmenge des verflüchtigten Phenols bestimmt. Die Menge des letzteren betrug 0.781 g, entsprechend 1.12 g des zerlegten Succinylesters.

Phenolbenzoësäureester = $C_6H_5O—CO—C_6H_5$.

Dieser Ester war für die Ermittelung der Spaltung der Aetherarten im Organismus ganz besonders geeignet, da sowohl das Phenol, wie die aus der Spaltung hervorgegangene und als Hippursäure ausgeschiedene Benzoësäure aus dem Harn isolirt und quantitativ bestimmt werden konnten. Der Aether wird leicht erhalten durch Zusammenschmelzen gleicher Theile Benzoësäure und Phenol und allmählichen Zusatz von Phosphoroxychlorid. Hat die Salzsäureentwickelung nachgelassen, so wird die erkaltete Schmelze mit Wasser versetzt, wobei sie krystallinisch erstarrt. Zur Entfernung der unveränderten Benzoësäure wird das Rohproduct mit verdünnter

[1]) Maly's Jahresbericht 1878, S. 362.

Kalilauge in der Kälte gewaschen und aus Alkohol umkrystallisirt. Der Schmelzpunkt des reinen Phenolbenzoësäureesters liegt bei 69°. Zunächst wurde durch Versuche am Menschen constatirt, dass der Ester im Organismus wirklich in Phenol und Benzoësäure zerlegt werde. Eine an Lungenemphysem leidende, sonst aber gesunde Frau erhielt 3 g des Esters in drei Dosen im Laufe eines Tages, ohne dass ihr Wohlbefinden irgendwie gestört worden wäre. Ein aliquoter Theil der hierauf gelassenen 24stündigen Harnmenge wurde bis zur neutralen Reaction mit Kalkmilch versetzt, filtrirt, das Filtrat auf dem Wasserbade eingedampft und der Rückstand mit Alkohol extrahirt. Der filtrirte alkoholische Auszug wurde verdunstet, der zurückgebliebene Syrup nach dem Erkalten mit verdünnter $SO_4H_2$ angesäuert und mit Essigäther + Aethyläther zweimal extrahirt. Aus den mittelst Scheidetrichter getrennten Auszügen wurde der Aether verdunstet und die auskrystallisirte, etwas braun gefärbte Hippursäure mit wenig Wasser gewaschen und getrocknet. Das Gewicht des Rohproductes war = 2.7 g. In einem anderen Theile des gleichen Harns wurde die Menge des ausgeschiedenen Phenols durch Destillation mit verdünnter Salzsäure und Fällung des Destillates mit Brom bestimmt. Auf die 24 stündige Harnmenge = 1545 ccm berechnet, war die Menge des ausgeschiedenen Phenols = 1.197 g. Auf 3 g Phenolbenzoësäureester sollten wir erhalten 1.42 g Phenol und 2.71 g Hippursäure. Es unterliegt demnach keinem Zweifel, dass in diesem Versuche die eingenommenen 3 g des Esters im Organismus vollständig zerlegt wurden. Eine so vollständige Zerlegung wurde bei der Digestion des Esters mit Pankreas nicht erzielt, doch haben wir mit Sicherheit nachgewiesen, dass auch hierbei eine Zerlegung in Phenol und Benzoësäure stattfindet.

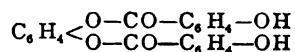
150 g frisches Ochsenpankreas wurden mit 75 g Glycerin und 5 g des Esters innig gemischt und sodann 40 Stunden lang bei Bruttemperatur stehen gelassen. Die mikroskopische Untersuchung des Gemenges zeigte während der Zeit nicht die geringste Fäulnisserscheinung. Hierauf wurde der sauer reagirende Kolbeninhalt mit viel Aether extrahirt und von dem getrennten ätherischen Auszuge der Aether abdestillirt. Der ätherische Auszug, welcher nach Zusatz von Wasser sich in eine mit Krystallen durchsetzte, weiche weisse Masse verwandelte, enthielt ausser Phenol und Benzoësäure noch Fette und Fettsäuren von der Drüse herstammend. Er wurde deshalb mit verdünnter Sodalösung neutralisirt und filtrirt. Ein Theil des Filtrates wurde nunmehr mit Essigsäure angesäuert und destillirt. Das Destillat, das sich schon durch den Geruch als phenolhaltig kennzeichnete, gab starke krystallinische Fällung mit Bromwasser, violette Färbung mit Eisenchlorid und die Liebermann'sche Phenolreaction, so dass die Gegenwart von Phenol nicht zu bezweifeln war. Aus einem anderen Theil des Filtrates wurde die Benzoësäure mit Salzsäure ausgefällt, aus heissem Wasser umkrystallirt und durch Schmelzpunktsbestimmung identificirt.

Um nun zu sehen, wie viel von dem Ester bei der künstlichen Digestion mit Glycerin und Pankreas zerlegt wird, hat Fräulein Panoff den Versuch unter ganz gleichen Bedingungen wiederholt. Die Masse wurde auch hier zunächst mit Aether ausgeschüttelt, der nach Abdestilliren des Aethers zurückgebliebene Rest in Alkohol gelöst und darin mittelst Normalalkali der Säuregrad bestimmt. Wenn man den

Säuregrad auf Benzoësäure berechnet, was nicht ganz zulässig ist, da die Lösung auch freie Fettsäure enthielt, so würde der Gehalt an Säure im Verdauungsgemisch 0.2858 g freier Benzoësäure entsprechen.

Wir wollen ferner prüfen, wie viel von dem Ester zerlegt wird, wenn die Fäulnissorganismen nicht ausgeschlossen sind. Der Versuch misslang insofern, als der Ester selbst antiseptisch wirkt. 150 g Pankreas wurden mit 150 ccm Wasser übergossen, dem Pankreas 5 g Phenolbenzoëäther zugesetzt und bei Bruttemperatur stehen gelassen. Erst nach 48 stündigem Stehen waren vereinzelte — höchstens vier bis fünf — Mikroorganismen im Gesichtsfelde zu sehen. Die Masse wurde nun genau wie im vorhergehenden Versuche behandelt und der Säuregrad auf Benzoësäure bezogen = 0.449 g gefunden. Ein Theil davon waren Fettsäuren, trotzdem war hier mehr Benzoësäure gebildet, jedenfalls aber nicht als Folge der Mikroorganismen, sondern eher als Folge des Wasserzusatzes und einer innigeren Vermengung des Esters mit der Drüse.

Nicht alle aromatischen Säureester werden jedoch im Organismus in ihre Componenten zerlegt. Mehr mit Rücksicht auf die therapeutische Verwerthung haben wir auch das Verhalten des Resorcinsalicylsäureesters gleich

$$C_6H_4<\begin{matrix}O-CO-C_6H_4-OH\\O-CO-C_6H_4-OH\end{matrix}$$

im Organismus untersucht. Dieser bis jetzt unbekannte Körper wurde ebenfalls mittelst Phosphoroxychlorid dargestellt. Bei der Einwirkung von $POCl_3$ auf ein Gemenge von Salicylsäure und Resorcin entsteht stets nur der neutrale Ester von der obigen Zusammensetzung. Am zweckmässigsten wird daher ein Aequivalentgewicht Resorcin mit zwei Aequivalentgewichten Salicylsäure zusammengeschmolzen und, noch bevor die Schmelze völlig erkaltet ist, mit $POCl_3$ in kleinen Portionen versetzt. Die Schmelze erwärmt sich von Neuem, so dass es nicht nöthig ist, wieder zu erhitzen, es entweicht reichlich Salzsäure, und wenn nach Zusatz neuer Portionen Phosphoroxychlorids keine Einwirkung mehr sichtbar ist, so ist die Operation vollendet. Das Rohproduct wird mit viel Wasser gewaschen, wobei es sich harzig abscheidet, indem allem Anscheine nach die Phosphorsäure sich ätherartig mit den Hydroxylen der Salicylsäure verbindet. Erst nach Zusatz von Alkohol verwandelt sich die harzige Masse in einen dicken Krystallbrei. Das rothgefärbte Rohproduct wird durch wiederholtes Umkrystallisiren aus etwa 60 proc. Alkohol in weissen, seidenglänzenden Nadeln erhalten, welche bei der Elementaranalyse folgende Zahlen ergaben:

0.339 g der über $SO_4H_2$ getrockneten Substanz gaben 0.1236 g $H_2O$ und 0.8564 g $CO_2$ oder 4.05 Proc. H und 68.87 Proc. C.

Die obige Formel verlangt 68.57 Proc. C und 4.00 Proc. H. Der Schmelzpunkt des Aethers liegt bei 111° C. In kaltem Wasser ist er ganz unlöslich, leicht löslich in Alkohol und Aether, weniger in Petroläther. Mit Eisenchlorid geben die Lösungen des Aethers gar keine Färbung. Der Körper ist geruch- und geschmacklos.

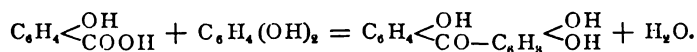
Die gleiche Patientin nahm dann innerhalb 24 Stunden 3 g des Esters in drei Dosen ein. Irgend welche subjective Erscheinungen, wie Ohrensausen u. s. w., traten

nicht ein. Der darauf gelassene Harn wurde durch Eisenchlorid, ähnlich wie nach Salicylsäuregebrauch, violett gefärbt. Da im Harne Resorcinätherschwefelsäure und Salicylursäure zu erwarten waren, so wurde er genau wie zur Isolirung der Hippursäure nach Einnahme von Benzoësäurephenoläther verarbeitet. Es gelang aber nicht, aus den Aetherextracten die Salicylursäure zu isoliren. Der Aetherrückstand, dessen Menge überhaupt ganz gering war, krystallisirte nicht, sondern hinterblieb als eine braune harzige Masse, die sich an der Luft roth färbte und in welcher erst nach längerem Stehen einzelne Krystallnadeln sich bildeten. Um dieselben zu isoliren, wurde der harzige Rückstand in wenig Aether gelöst und die ungelöst gebliebenen Krystalle auf dem Filter mit etwas Aether nachgewaschen. Die Krystalle waren jedoch nicht Salicylursäure. Ihre Lösung wurde durch Eisenchlorid nicht gefärbt. Der Krystallform nach und wegen des Geruchs nach Benzonitril beim trockenen Erhitzen könnten die Krystalle Hippursäure gewesen sein. Fräulein Panoff konnte die Versuche nicht weiter fortsetzen und ich werde sie gelegentlich wieder aufnehmen.

Aus den Versuchen mit den drei aromatischen Estern geht hervor, dass die zwei ersten sicher im Organismus verseift werden. Es wäre aber voreilig, diese Spaltung der Ester als eine allgemeine hinstellen zu wollen, wie aus dem Versuche mit dem Ester aus Salicylsäure und Resorcin hervorgeht. Unzweifelhaft geschieht diese Spaltung durch das Pankreas, denn so unvollkommen und die natürlichen Verhältnisse wenig nachahmend unsere Versuche mit dem Pankreas waren, so konnte dabei mit Sicherheit, wie z. B. in dem Versuche mit Benzoësäurephenolester, das Auftreten von Phenol und freier Benzoësäure nachgewiesen werden.

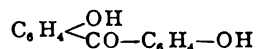
Hervorheben möchte ich, dass die Spaltung aromatischer Ester im Darmcanal möglicher Weise in der Therapie, namentlich bei mikrobiotischen Erkrankungen des Darmrohrs von Nutzen sein könnte — Phenol, Resorcin, Salicylsäure und Benzoësäure sind stark antiseptisch wirkende Substanzen. Auf Grund des oben citirten Versuches von Schmiedeberg, wonach das Benzoëglycerid zum Theil unverändert durch die Excremente ausgeschieden wird, ist anzunehmen, dass die Zerlegung dieser Säureester allmählich durch die ganze Länge des Darmcanals sich vollzieht und folglich Phenol, Resorcin, Salicylsäure u. s. w. gewissermaassen local auf die Darmmucosa einwirken können. Die in Wasser und verdünnten Alkalien meistens unlöslichen Ester wirken übrigens schon als solche antiseptisch und ihre Darstellung mittelst Phosphoroxychlorid ist sehr einfach und ausgiebig.

Allem Anscheine nach werden auch einzelne aromatische Ketone im Organismus durch das Pankreas zerlegt. Mit Rücksicht auf ihre eventuelle therapeutische Verwendung hat Herr Dr. P. Repond [1]) das vor wenigen Jahren von Arthur Michael [2]) beschriebene Salicylresorcin- und Salicylphenolketon dargestellt und auf meinen Vorschlag einige physiologische Versuche damit angestellt. Das Keton aus Salicylsäure und Resorcin entsteht durch mehrstündiges Erhitzen der beiden Substanzen auf 195 bis 200°, entsprechend der Gleichung:

$$C_6H_4{<}{}^{OH}_{COOH} + C_6H_4(OH)_2 = C_6H_4{<}{}^{OH}_{CO-C_6H_3}{<}{}^{OH}_{OH} + H_2O.$$

[1]) Correspondenzbl. f. schweiz. Aerzte. 13. Jahrg. 1883. — Dieser Band S. 721.

[2]) Ber. 14, 658.

Nach Versuchen des Herrn Repond wird ein Theil des von Menschen eingenommenen Ketons unverändert ausgeschieden; ein anderer dagegen in Salicylsäure und Resorcin gespalten. Das Salicylphenolketon gleich

$$C_6H_4 \begin{matrix} \diagup OH \\ \diagdown CO-C_6H_4-OH \end{matrix}$$

wird vom Organismus unverändert und vollständig ausgeschieden.

Das Nahrungsfett wird im Darmcanal zum grössten Theil als Neutralfett resorbirt, und was der Resorption entgeht, wird der Hauptmenge nach ebenfalls als Neutralfett mit dem Kothe ausgeschieden (Voit). Unzweifelhaft ferner werden die abgespaltenen Fettsäuren nur zum geringsten Theil als Seifen, grösstentheils aber als solche resorbirt; die Frage ist daher naheliegend, zu welchem Zwecke die Fettsäuren überhaupt im Darmcanal gebildet werden? Die Antwort hierauf, glaube ich, geben die Versuche von Brücke[1]), welche von Gad[2]) wiederholt und bestätigt wurden. Brücke fand, dass Fettsäuren enthaltendes Oel, wenn es mit Galle oder Sodalösung zusammen kommt, beim ersten Schüttelstosse zu einer weissen Milch zerstäubt, dass aber säurefreies Oel dies nicht thut. Nach Gad liefert ein Tropfen ranzigen Fettes schon bei blosser Berührung mit einer alkalischen Flüssigkeit so viel Emulsion, als es bei den gewählten Bedingungen überhaupt, selbst unter Anwendung mechanischer Kräfte, zu liefern im Stande ist. — Danach also werden im Darmcanal die Fettsäuren behufs der Fettresorption gebildet.

Zum Schlusse will ich erwähnen, dass wir verschiedene Versuche angestellt haben, um das fettspaltende Enzym aus dem Pankreas zu isoliren — bis jetzt nur mit geringem Erfolge —. Ich werde die Untersuchungen hierüber später wieder aufnehmen.

Bern, im September 1885.

---

## Bemerkungen zu einer Bemerkung Pasteur's

von

**M. Nencki.**

Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 20, 3..

Die Resultate der vorstehenden Untersuchungen, aus welchen hervorgeht, dass nicht nur natürliche und künstliche Fette, sondern auch aromatische Aether und die Hippursäure durch das Pankreas in ihre Componenten zerlegt werden, sowie die durch unzählige Versuche erwiesene Umwandlung der Eiweissstoffe durch den Magen- und Pankreassaft, ferner die Verzuckerung der Kohlehydrate durch Pankreas und Speichel veranlassen mich, meine Ansicht über den Antheil der Mikroben an dem Leben der Pflanzen und Thiere gegenüber einer Aeusserung Pasteur's auszusprechen.

---

[1]) Wiener akad. Ber. von 1870. 61. Jahrg., S. 362.

[2]) Maly's Jahresber. f. 1878, S. 33.

Im ersten Hefte der diesjährigen Comptes rendus der Pariser Akademie (100, 66) veröffentlichte Herr E. Duclaux einige Versuche über das Keimen pflanzlicher Samen (Erbsen und Bohnen), welche von Mikroorganismen gereinigt und in sterilisirten Nährboden ausgesäet wurden. Der Nährboden enthielt keine salpetersauren und salpetrigsauren Salze und kein Ammoniak, sondern war mit sterilisirter Milch und in anderen Versuchen mit sterilisirtem Rohrzucker oder Stärkekleister getränkt. Den Pflanzensamen wurden also keine einfachen Kohlen- und Stickstoffverbindungen, wie wir sie als nothwendig zu ihrem Wachsthum kennen, sondern complexe organische Verbindungen, wie sie eben in der Milch enthalten sind, geboten. Das Resultat dieser Versuche war, dass nach ein bis zwei Monate langem Verweilen der Samen in solchem Nährboden und bei Abhaltung von Mikroorganismen aus der Luft die Milch unverändert blieb. Sie war nicht einmal coagulirt und ihr Caseïn nach wie vor durch Säuren fällbar.

Die ausgesäeten Samen verhalten sich genau so wie bei den bekannten Culturen von Boussingault in destillirtem Wasser. Ihr Trockengewicht wurde immer geringer und zwar um so mehr, je länger der Keimling in dem Boden vegetirte. Auch als der sterilisirte Boden mit Candiszucker oder Stärkekleister getränkt wurde, blieb das Wachsthum der Pflanzen aus. Duclaux schliesst mit Recht daraus, dass das Wachsthum und Leben der Pflanzen im Boden nur bei Gegenwart der Mikroben möglich ist, welche die noch immer complicirt zusammengesetzten Bestandtheile des Düngers in die einfachsten Verbindungen, wie Kohlensäure, Wasser, Ammoniak, Salpeter- und salpetrige Säure, verwandeln und sie erst so für den Pflanzenkeimling verwerthbar machen.

Pasteur, welcher die Versuche Duclaux's der Akademie mittheilte, begleitete sie mit folgenden Bemerkungen:

„Seit Jahren habe ich oft mit jüngeren Gelehrten meiner Umgebung darüber gesprochen, wie interessant es wäre, ein junges Thier (Kaninchen, Meerschweinchen, Hund, Huhn) von der Geburt ab mit reinen Nährstoffen zu ernähren, darunter meine ich Nährstoffe, die künstlich und vollständig von allen Mikroben befreit wären.

Ohne etwas Bestimmtes voraussagen zu wollen, verhehle ich nicht, dass, wenn ich Zeit hätte, diese Versuche auszuführen, ich sie unternehmen würde, mit dem vorgefassten Gedanken, dass das Leben unter diesen Bedingungen unmöglich wäre.

Sollten sich in ihrem Verlaufe derartige Versuche vereinfachen lassen, dann könnte man vielleicht probiren, zu erforschen, wie sich die Verdauung durch systematischen Zusatz zu den reinen Nährstoffen von diesen oder jenen oder verschiedenen Mikroben gestalten würde.

Ohne erhebliche Schwierigkeiten würde sich zu derartigen Experimenten das Hühnerei eignen. Man müsste in dem Momente vor dem Auskriechen das Ei aufs Sorgfältigste von jedem Staube reinigen und das ausgekrochene Huhn sofort in einen von allen Mikrobenkeimen freien Raum bringen, in einen Raum, in welchen man reine Luft einleiten und reine Nahrung (Wasser, Milch, Körner) hineinbringen könnte.

Sei nun das Resultat positiv, d. h. die oben ausgesprochene Voraussicht bestätigend oder negativ, selbst im umgekehrten Sinne, d. h. dass dann das Leben

leichter und selbstthätiger wäre, auf alle Fälle wäre die Ausführung des Versuches von hohem Interesse."

Das negative Resultat der Versuche von Duclaux war vorauszusehen. Unsere Kenntnisse in der Agriculturchemie sind nicht so elementar, dass wir nicht wüssten, dass Milch und nur Milch allein kein Nährboden für die Pflanzen sein kann. Jeder Landwirth weiss es, dass die Bestandtheile des Düngers erst verfaulen und verwesen müssen, um aus dem Nährboden von der keimenden Pflanze assimilirt zu werden, und Pasteur war mit der Erste, der die Vermuthung ausgesprochen, dass die Nitrification im Boden durch den Lebensprocess niederer Organismen vermittelt werde. Seither ist durch die Arbeiten von Schlösing, Müntz, Warington, Wollny [1]) u. a. m. die Thatsache, dass die Zersetzungsprocesse der organischen Substanzen des Bodens durch den Lebensprocess niederer Organismen bewirkt werden, mit genügender Sicherheit erwiesen. Kein Pflanzenleben in der Natur ohne das Leben der Mikroben. Dies ist ein Axiom, das Niemand bezweifeln kann, und so schön und mühevoll die Versuche des Herrn Duclaux auch sind, so wenig ist das Resultat derselben überraschend.

Was dagegen die von Herrn Pasteur proponirten Versuche betrifft, so glaube ich, wenigstens bezüglich der Wirbelthiere, behaupten zu können, dass seine hierüber vorgefasste Meinung eine irrige ist.

Ich habe gemeinschaftlich mit meinen Schülern vor nahezu zehn Jahren gezeigt, worin sich die Zersetzung der Nahrung durch die Verdauungssäfte von der Zersetzung der Nahrung im Verdauungscanal durch die Mikroben unterscheidet. Der Stärkekleister wird durch den Speichel und Pankreassaft gelöst und verzuckert, das Eiweiss durch den Magen- und Pankreassaft in lösliche in der Hitze nicht gerinnende Modificationen übergeführt und durch das Pankreas Fette behufs der Resorption emulgirt und zum Theil in Glycerin und Fettsäure gespalten. Dies Alles ohne das geringste Zuthun der Mikroben. Diese Producte werden von der Schleimhaut des Verdauungsschlauches resorbirt, soviel wir wissen, ohne jede Beihülfe der Spaltpilze, und durch ihre Umsetzungen und Oxydation in den Geweben — auch hier ohne Zuthun der Mikroben — vollzieht sich die Stoffmetamorphose, die das Leben der Organismen ausmacht.

Wie anders ist die Zersetzung des Speisebreies durch die Mikroben. Für die Fäulniss der Proteïnsubstanzen ist es charakteristisch, dass, sobald das Eiweiss von ihnen angegriffen wird, sofort auch die Endproducte, wie Kohlensäure, flüchtige Fettsäuren und Ammoniak, neben Wasserstoff auftreten. Als specifische Spaltungsproducte des Speisebreies im Darmcanal wurden gefunden: Indol, Skatol, Phenol, Milchsäure, flüchtige Fettsäuren, aromatische Säuren, daneben Ammoniak, organische Basen (Ptomaine), Kohlensäure, Wasserstoff, Schwefelwasserstoff und Grubengas. Alle diese Producte sind keine Nahrungsstoffe. Der Organismus bedarf ihrer nicht, sie sind ihm im Gegentheil, sobald sie in grösserer Menge im Darme entstehen, schädlich und lästig. Es soll mich freuen, wenn es Pasteur oder einem seiner

---

[1]) Man vergleiche hierüber die Monographie von Dr. E. Wollny, Ueber die Thätigkeit niederer Organismen im Boden. Braunschweig 1883.

Schüler gelingt, den Versuch mit aus dem Ei ausgeschlüpften Hühnchen in reiner Luft und mit reiner Nahrung durchzuführen, aber ich habe die entgegengesetzte, vorgefasste Meinung und glaube, dass dem Hühnchen „la vie sera plus facile et plus active“, als wenn es sich mit den Mikroben in seinem Darmcanal umherschleppen muss. Die Thätigkeit der Spaltpilze im Organismus ist nach meiner Ansicht eine rein parasitäre und ich hege die Hoffnung, dass es noch gelingen wird, die Zersetzung der Nahrungsstoffe im Verdauungsrohre einzig und allein durch unsere Verdauungssäfte besorgen zu lassen und uns von den lästigen Gasen und stinkenden Producten zu befreien. Wer einmal gesehen hat, mit welcher rapiden Geschwindigkeit durch das Pankreas Eiweiss oder Stärkekleister gelöst und in Pepton, respective Zucker verwandelt werden, der wird ohne Sorgen für seine Verdauung auf die Mithülfe der Mikroben verzichten. Ich glaubte gerade einer Autorität wie Pasteur gegenüber diese Bemerkungen machen zu müssen. Ich bin gewiss der letzte, der die Bedeutung der Mikroben in den Processen der Natur unterschätzt, doch ne quid nimis!

Bern, im September 1885.

---

# Ueber den Ursprung der Glycerinphosphorsäure des Harns

von

**S. Malischeff.**

Inaug.-Dissertation, Bern. Referirt von den Herausgebern.

Der Verfasser hat sich die Frage gestellt, ob die Phosphorsäure im Organismus ätherartige Verbindungen mit organischen Substanzen zu bilden im Stande wäre. Dazu wurde er durch die Arbeit von Sotnitschewsky[1]), welcher die Anwesenheit der Glycerinphosphorsäure im normalen menschlichen Harn constatirt hatte, veranlasst. Später konnte F. Munk[2]) im Hunde- und Menschenharne nach Aufnahme von Glycerin weder Glycerinschwefelsäure, noch Glycerinphosphorsäure, noch überhaupt unzersetztes Glycerin nachweisen; er hat jedoch den Einfluss der Glycerinfütterung auf die Menge der phosphorsauren Salze nicht berücksichtigt. Der Verfasser hat in einer Serie von Versuchen bei Aufnahme von Glycerin (15 bis 20 g pro die) die tägliche Menge ausgeschiedener Phosphorsäure bestimmt. Die Versuche wurden theils an Reconvalescenten, theils an gesunden Menschen angestellt. Es wurden weder die phosphorsauren Salze vermindert, noch normale Mengen der Glycerinphosphorsäure vermehrt im Harne gefunden. Diese letzte Säure wurde nach dem Verfahren von Sotnitschewsky bestimmt. Das Glycerin hat auch keine Vermehrung der gepaarten Schwefelsäuren hervorgerufen. Ebenfalls wurden ganz

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 4, 214.

[2]) Verhandlungen der physiol. Gesellschaft zu Berlin 1878, Nr. 4 und 5.

identische negative Resultate im Versuche bei Einnahme von 5 g Resorcin erhalten. Die anderen Versuche mit der Einnahme der löslichen phosphorsauren Salze führten zu dem Ergebniss, dass die Menge der ausgeschiedenen Glycerinphosphorsäure dabei keineswegs vermehrt wird. Das Auftreten der letzteren im Harne mag danach anderen chemischen Processen im Organismus, wahrscheinlich der Zersetzung des Lecithins, zugeschrieben werden.

---

Ueber die Einwirkung der Säurechloride auf unorganische Verbindungen von B. Lachowicz. Ber. **18**, 2990. Diese Arbeit bildet eine Forsetzung der Untersuchungen (siehe Ber. **17**, 1281), welche der Verfasser im Chemisch-technologischen Laboratorium in Lwów unternommen hatte, steht deshalb in keinem näheren Verhältniss zu den Fragen, mit denen das Laboratorium von Prof. Nencki beschäftigt war und hat deswegen nicht die Aufnahme in diesem Sammelwerk finden können.